

**UNTERSUCHUNGEN ZUR ABSCHIEDUNG
LUFTGETRAGENER VIREN MIT DEM ZENTRIFUGALSAMMLER
NACH SCHIFF (KSF 70)**

ANDREAS HÄNEL

Disbui. München

1987



AUS DEM FACHGEBIET TIERHYGIENE
IM INSTITUT FÜR TIERMEDIZIN UND TIERHYGIENE MIT TIERKLINIK
DER UNIVERSITÄT HOHENHEIM
(GESCHÄFTSF. DIREKTOR: PROF. DR. D. STRAUCH)

EINGEREICHT ÜBER DAS
INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE,
INFEKTIONS- UND SEUCHENMEDIZIN DER TIERÄRZTLICHEN FAKULTÄT
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(VORSTAND: PROF. DR. DR. H. C. MULT. A. MAYR)

UNTERSUCHUNGEN ZUR ABSCHIEDUNG LUFTGETRAGENER VIREN MIT DEM ZENTRIFUGALSAMMLER NACH SCHIFF (KSF 70)

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER TIERMEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE
DER TIERÄRZTLICHEN FAKULTÄT
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

VON
ANDREAS HÄNEL
AUS STEINHEIDEL

MÜNCHEN 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. J. Unshelm

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	4
2.1. Aerosole	4
2.1.1. Allgemeines	4
2.1.2. Entstehung mikrobiologischer Aerosole	5
2.1.3. Sammelverfahren für mikrobiologische Aerosole	7
2.1.3.1. Sedimentation	8
2.1.3.2. Filtration	9
2.1.3.3. Impaktion	10
2.1.3.4. Zentrifugation	13
2.1.3.5. Elektropräzipitation	14
2.1.3.6. Impingement	15
2.1.3.7. Thermopräzipitation	18
2.2. Ausbreitung luftgetragener Viren und aerogene Virusinfektion	18
2.3. Einfluß verschiedener Umweltbedingungen auf die Tenazität luftgetragener Viren	25
2.3.1. Relative Luftfeuchtigkeit	25
2.3.2. Temperatur	30
2.3.3. Ultraviolette Strahlung und Licht	31
2.3.4. Atmosphärische Gase	32
2.3.5. Open Air Factor	33
2.4. Inaktivierungsmechanismen bei luftgetragenen Viren	35
2.5. Testviren	40
2.5.1. ECBO-Virus	40
2.5.2. IBR/IPV-Virus	40
2.5.3. Newcastle-Disease-Virus	41
2.5.4. Vaccinia-Virus	42

	Seite
3. MATERIAL UND METHODEN	43
3.1. Keimsammler	43
3.1.1. Der Zentrifugalsammler nach Schiff (KSF 70)	43
3.1.1.1. Beschreibung des Gehäuses	43
3.1.1.2. Beschreibung des Aufsatzes	44
3.1.1.3. Funktionsweise und Handhabung des Geräts	45
3.1.1.4. Abbildungen	48
3.1.2. Der All-Glass Impinger 30 (AGI 30)	52
3.2. Verwendete Testviren	54
3.3. Zellkulturen	55
3.3.1. MDBK-Zellen	55
3.3.2. VERO-Zellen	56
3.3.3. HEF-Zellen	57
3.3.4. Ansatz von Hühnerembryofibroblasten	57
3.4. Virustitrierung	58
3.4.1. Virustitrierung mit Endpunktbestimmung	58
3.4.2. Virustitrierung im Plaquetest	59
3.5. Quantitativer Sporennachweis	60
3.6. Gewinnung von Virus- und Sporensuspensionen für die Aerosolerzeugung	61
3.6.1. Virussuspensionen	61
3.6.2. Sporensuspension	62
3.7. Aerosolerzeugung	63
3.8. Versuchsaufbau	66
3.8.1. Kleine Aerosolkammer (Versuchsaufbau I)	66
3.8.2. Große Aerosolkammer (Versuchsaufbau II)	69
3.9. Sammelmedium	72
3.10. Versuchsreihen	73
3.10.1. Vorversuche: Untersuchungen zum Einfluß des Sammelmodus auf das Sammelergebnis	73
3.10.2. Untersuchungen zum Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren	74

	Seite
3.10.3. Untersuchungen zum Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute	75
3.10.4. Kombiniertes Einsatz von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammelausbeute	77
3.10.5. Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung	78
3.10.6. Untersuchungen zum Sammelstreß	80
3.10.6.1. Sammelstreß im KSF 70 auf Virus, das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat	80
3.10.6.2 Sammelstreß im KSF 70 und AGI 30 auf Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist	81
3.10.7. Untersuchungen zur Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit	82
3.10.8. Bestimmung der Nachweisgrenze von Virus-aerosolen für den KSF 70 und den AGI 30	84
3.10.9. Bestimmung der Überlebensrate von luftgetragennem IBR/IPV-Virus unter Berücksichtigung der physikalischen Aerosolverluste	85
3.11. Methodik der Versuchsauswertung	87
3.11.1. Die Bewertungszahl	87
3.11.2. Vergleich der Sammelleistung des KSF 70 mit der des AGI 30 (V-Wert)	90
4. ERGEBNISSE	92
4.1. Ergebnisse der Vorversuche	92
4.2. Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren	96
4.3. Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute	100
4.4. Ergebnisse des kombinierten Einsatzes von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammelausbeute	111

4.5.	Ergebnisse der Versuche zur Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung	115
4.5.1.	Durchreißeffekt im KSF 70	115
4.5.2.	Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30	119
4.6.	Ergebnisse der Untersuchungen zum Sammelstreß	123
4.7.	Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit	133
4.8.	Ergebnisse der Bestimmung der Nachweisgrenze von Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30	149
4.9.	Ergebnisse der Bestimmung der Überlebensrate von luftgetragendem IBR/IPV-Virus unter Berücksichtigung der physikalischen Aerosolverluste	156
5.	DISKUSSION	159
5.1.	Zu den Ergebnissen der Vorversuche	159
5.2.	Zum Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren	160
5.3.	Zum Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute	161
5.4.	Zu den Ergebnissen des kombinierten Einsatzes von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammelausbeute	164
5.5.	Zu den Ergebnissen der Versuche zur Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung	165
5.6.	Zu den Ergebnissen der Sammelstreßuntersuchungen	167
5.7.	Zur Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit	168

	Seite
5.8. Zu den Ergebnissen der Bestimmung der Nach- weisgrenze von Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30	172
5.9. Beurteilung des KSF 70 im Vergleich mit dem AGI 30	174
6. ZUSAMMENFASSUNG	176
7. LITERATURVERZEICHNIS	180

1. EINLEITUNG

Die Wissenschaft von der Lufthygiene befaßt sich mit dem Nachweis und der Überwachung der Luftverschmutzung, die durch radiologische, chemische, biologische und inerte Materialien hervorgerufen wird (WOLF et al., 1959). Von größtem Interesse ist dabei der Effekt dieser Kontaminanten auf die Gesundheit und die Leistungsfähigkeit von Mensch und Tier.

Auch wenn wir heute wissen, daß viele Infektionskrankheiten durch Aerosole infektiösen biologischen Materials übertragen werden, so darf doch die Bedeutung der Erfassung unbelebter Aerosole nicht unterschätzt werden. Es ist erwiesen, daß eine positive Relation besteht zwischen der Konzentration von chemischen Schadstoffen aus Industrieemissionen und der Empfänglichkeit exponierter Populationen für akute respiratorische Infektionen (LEVY et al., 1977). Auch der Zusammenhang zwischen dem Auftreten nichtinfektioser akuter respiratorischer Erkrankungen, wie z. B. Pseudo-Krupp, und der Luftbelastung, vor allem durch Schwefeldioxid und Schwebstaub, ist statistisch abgesichert (HAUPT, 1986). Wie wichtig für die öffentliche Gesundheit auch der qualitative und quantitative Nachweis radioaktiver Stäube ist, die nach der Explosion von Atomwaffen oder nach Störfällen in Kernreaktoren in die Atmosphäre gelangen, hat der Brand des Kernkraftwerkes von Tschernobyl in der Ukraine im April 1986 dramatisch gezeigt (KAUL, 1986).

Als Teil der Lufthygiene beschäftigt sich die Aerobiologie mit luftgetragenen, d. h. in Aerosolen vorliegenden Mikroorganismen, insbesondere Infektionserregern. Die experimentelle Aerobiologie studiert aerobiologische Prinzipien im Laboratorium oder im Felde unter kontrollierten Bedingungen. Nach DIMMICK und AKERS (1969) verfolgt sie dabei mehrere Ziele:



Sie will unsere Kenntnisse von der Entstehung luftgetragener Mikroorganismen erweitern, die Überlebensfähigkeit der Mikroorganismen im luftgetragenen Zustand verständlich machen und Relationen aufstellen zwischen Umweltfaktoren, Überlebensfähigkeit und Infektiosität. Ferner will sie die Mechanismen definieren, wie pathogene Keime an die Orte gelangen, wo sie ihre krankmachende Wirkung entfalten können, bestimmte Krankheitscharakteristika mit einer möglichen aerogenen Infektion in Verbindung bringen und den ganzen Vorgang sowohl qualitativ als auch quantitativ beschreiben.

Der Nachweis luftgetragener Keime (Bakterien und Bakterien-sporen, Chlamydien, Rickettsien, Viren, Pilze und Pilzsporen) hat in 2 Bereichen große praktische Bedeutung.

Der erste Bereich umfaßt die Kontrolle der Luftkeimzahlen in Krankenhäusern, vor allem in Operationssälen, und in Produktionsstätten für sterile Arzneimittel, Kosmetika und Lebensmittel. Im allgemeinen begnügt man sich hier mit dem Nachweis luftgetragener Bakterien und Pilze. Eine generelle Prüfung auf das Vorhandensein von Viren ist wegen der Vielzahl der Virusarten und der Schwierigkeiten bei ihrer Kultivierung nicht möglich, häufig aber auch nicht nötig, da Viren beispielsweise keinen Anteil am Verderb von Produkten haben (WALLHÄUSSER, 1984).

Der zweite Bereich mit praktischer Bedeutung der Erfassung luftgetragener Keime ist die Erforschung der Epidemiologie von Infektionskrankheiten und Seuchen bei Mensch und Tier. Als Beispiele für Erreger, die natürlicherweise auf dem Luftwege - oft über große Entfernungen - übertragen werden, seien das Virus der Maul- und Klauenseuche (HUGH-JONES, 1973; GLOSTER et al., 1982) das Virus der Newcastle Disease (HUGH-JONES, 1973; GLOSTER, 1983b), *Mycobacterium tuberculosis* (RILEY et al., 1961; zitiert nach ARTENSTEIN et al., 1967), *Coxiella burnetii* (LEYK et al., 1976) und Mikrokonidien von *Histoplasma capsulatum* sowie Arthrosporen von *Coccidioides immitis* (GREGORY, 1973) angeführt.

Zweck der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen war es abzuklären, inwieweit der Zentrifugalsammler nach Schiff (KSF 70) für eine Abscheidung luftgetragener Viren einsetzbar ist.

Im Vordergrund standen dabei Versuchsreihen über die Abhängigkeit der Sammelausbeute an infektiösem Virus von der Stabilisierung der luftgetragenen Viren durch Schutzsubstanzen, von der Zusammensetzung des Sammelmediums und von der Höhe der relativen Luftfeuchtigkeit. Die Ermittlung der Auswirkung von Sammelstreß auf bereits abgeschiedene Viren sowie die Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung waren Ziele weiterer Versuchsreihen. Versuche zur Bestimmung der Nachweisgrenze von Virusaerosolen für den KSF 70 wurden ebenfalls durchgeführt.

In den meisten Versuchsreihen konnte aufgrund von Parallelversuchen mit einem standardisierten Keimsammler, dem All-Glass Impinger 30 (AGI30), die Sammeleffizienz des KSF 70 vergleichend beurteilt werden.

2. LITERATUR

2.1. Aerosole

2.1.1. Allgemeines

Aerosole werden definiert als jede relativ stabile Suspension von Partikeln in einem Gas, insbesondere in Luft. Der Begriff umfaßt sowohl die gasförmige als auch die partikuläre Phase (CADLE, 1975).

Aerosole kommen in der Biosphäre der Erde nahezu ubiquitär vor (SPENDLOVE und FANNIN, 1982). Sie entstehen, indem feste oder flüssige Stoffe pulverisiert bzw. zerstäubt und von Luftströmungen, Vibrationen oder ähnlichem in den Schwebzustand überführt werden (Dispersionsaerosole) oder, indem sich Einzelmoleküle durch Kondensation in der Luft befindlicher Dämpfe zusammenlagern (Kondensationsaerosole). Man kennt auch gemischte Aerosole, deren Teilchen durch Dispergierung und Kondensation gebildet werden (JARNYCH, 1976).

Derselbe Autor bezeichnet durch Dispergierung entstandene Feststoffaerosole als Stäube, durch Kondensation entstandene Feststoffaerosole als Rauche und Aerosole mit flüssigen Teilchen, unabhängig von ihrer Entstehungsart, als Nebel.

CARLSON et al. (1961) unterteilen die Aerosole nach ihrer Partikelgröße in

- grobdisperse Systeme $> 10^{-5}$ cm Durchmesser
- kolloiddisperse Systeme: $10^{-5} - 10^{-7}$ cm Durchmesser
- molekulardisperse Systeme: $< 10^{-7}$ cm Durchmesser

Die Teilchen eines Aerosols können je nach dem Stoff, aus dem sie bestehen, eine sehr unterschiedliche Gestalt haben.

Nebeltröpfchen sind normalerweise kugelförmig, Rauchteilchen regelmäßig kristallin und Staubpartikel irregulär gestaltet. Die Größe und der stoffliche Charakter der Teilchen bestimmen viele physikalisch-chemische Eigenschaften des Aerosols, wie Sedimentationsgeschwindigkeit, Diffusion, Koagulation und Verdampfungsgeschwindigkeit (JARNYCH, 1976).

2.1.2. Entstehung mikrobiologischer Aerosole

Mikrobiologische Aerosole, d.h. Aerosole, die lebendes bzw. vermehrungsfähiges Material in Form von Mikroorganismen oder Viren enthalten, entstehen sowohl auf natürliche Weise als auch durch anthropogene Prozesse (SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

Natürlicherweise führen bei Mensch und Tier Husten, Niesen und Phonation zur Bildung von Mikroaerosolen aus dem Respirationstrakt (KRAIDMAN, 1975). Von besonderer Bedeutung sind dabei die Aerosole, die von mit Krankheitserregern infizierten Individuen ausgehen. Krankheitserreger, die in Körpersekreten, Kot und Harn ausgeschieden werden, können sekundär ebenfalls in den luftgetragenen Zustand übergehen (SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

In der Natur ist es vor allem der Wind, der Aerosole entstehen läßt. Auf großen Wasserflächen führt er über die Ausbildung von Wellengang zur Loslösung feinsten Flüssigkeitströpfchen, auf dem Lande wirbelt er feinen Staub und Sand auf. An Wasserfällen und in der Brandung des Meeres entstehen Nebel, das Herabstürzen von Erde, etwa bei einem Erdbeben, führt zu Staubwolken. Bei all diesen Vorgängen gelangen die im Wasser und im Erdboden befindlichen Bakterien, Viren und Pilze mit in die Atmosphäre (JARNYCH, 1976).

Vielfältig sind die anthropogenen Prozesse, die zur Bildung infektiöser Aerosole führen. Ein Bericht der WORLD HEALTH ORGANIZATION (1979) führt als wichtigsten die Belüftung und

Verrieselung von Abwasser an. Dem Bericht zufolge führen die in den Aerosoltröpfchen enthaltenen pathogenen Bakterien und Viren zu einer erheblichen Gesundheitsgefährdung des Menschen. Dies umso mehr, als in den bei der Belüftung von (Ab-)Wasser entstehenden Aerosoltröpfchen die Konzentration von Bakterien oder Viren mehr als hundertfach so hoch sein kann, wie im umgebenden Wasser.

In experimentellen Untersuchungen wiesen BLANCHARD und SYZDEK (1974) nach, daß in einer Flüssigkeit aufsteigende Luftblasen darin suspendierte organische Stoffe und Bakterien an sich reißen. Beim Platzen der Blasen an der Oberfläche entstehen Spritztröpfchen, in welchen das organische Material bzw. die Keime in wesentlich höherer Konzentration vorliegen als in der ursprünglichen Suspension. Der Konzentrierungsfaktor ist dabei umso größer, je länger der Weg der aufsteigenden Luftblase ist. BAYLOR et al. (1977a) fanden entsprechende Ergebnisse bei ihren Versuchen mit Virussuspensionen. Beim Platzen von Luftblasen, die durch eine Suspension der Bakteriophagen T2 und T4 angestiegen waren, entstanden Spritztröpfchen, in denen die Viruskonzentration bis zu 50mal über der Ausgangssuspension lag. Daß es auch bei natürlich entstehenden Aerosolen zu einer Aufkonzentrierung von Viren in den Aerosoltröpfchen kommt, demonstrierten BAYLOR et al. (1977b). Sie verbrachten Virus in die Meeresbrandung und fanden es daraufhin im Aerosol in mehr als 200facher Konzentration wie im Wasser wieder.

Überall dort, wo weitgehend keimfreie Luft gewünscht wird, wie z.B. in den Produktionsräumen der Pharma- und Kosmetikindustrie oder in Operationssälen, stellen an Staubpartikel gebundene Mikroorganismen ein großes Problem dar. Der Staub kann durch fehlerhafte Klima- und Belüftungsanlagen oder bei der Reinigung der Räume aufgewirbelt werden (KRAIDMAN, 1975). Aus den Untersuchungen von BRAYMEN (1969) geht hervor, daß insbesondere der Einsatz von Hochdruckreinigungsgeräten starke Aerosolbildung bewirkt.

Infektiöse Aerosole entstehen auch beim Arbeiten mit Krankheitserregern in mikrobiologischen Laboratorien, wobei es zu einer Gefährdung des Personals kommen kann (SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

AXELSSON et al. (1980) untersuchten die erhöhte Rate von Spontanaborten bei dem weiblichen Personal eines Labors für Virusdiagnostik. Sie fanden, daß virale Aerosole, wie sie etwa bei der Bearbeitung von Serumproben entstehen, den Faktor aus der Arbeitsumwelt darstellten, der der Abortrate am engsten korreliert war.

2.1.3. Sammelverfahren für mikrobiologische Aerosole

Von der Vielzahl der Sammelmethode, die für luftgetragene Bakterien, Pilzsporen oder Pollen entwickelt worden sind, sind die meisten auch für luftgetragene Viren geeignet (SPENDLOVE und FANNIN, 1982). Notwendige Modifikationen betreffen vor allem die Art des Sammelmediums.

Bei der Sammlung luftgetragener Mikroorganismen kommen je nach Art des Keimsammlers die folgenden physikalischen Prinzipien zum Tragen:

- Sedimentation
- Filtration
- Impaktion
- Zentrifugation
- Elektropräzipitation
- Impingement
- Thermopräzipitation

2.1.3.1. Sedimentation

Die Sedimentation ist eine sehr einfache Methode zur mikrobiologischen Untersuchung der Luft und wird vor allem für den Nachweis luftgetragener Bakterien genutzt. Dazu werden mit Nähragar beschickte Petrischalen für eine bestimmte Zeit offen aufgestellt. Nach Bebrütung lassen sich die sedimentierten Keime als Kolonien auszählen. Von Nachteil ist, daß die Sammelausbeute nur qualitative Aussagen über die untersuchte Luft zuläßt. Der Bezug auf ein definiertes Luftvolumen ist in der Regel nicht möglich. Nach TEC (zitiert nach JARNYCH, 1976) sedimentieren auf einer 5 min lang exponierten Petrischale die Mikroorganismen aus ungefähr 3 l Luft. Da die größeren Partikel in der Luft entsprechend ihrer größeren Masse schneller sedimentieren als die kleineren, sind die Sammelergebnisse jedoch nicht repräsentativ.

Für den Nachweis von Viren ist das Verfahren weniger geeignet. Luftgetragene Viren haben aufgrund ihrer geringen Größe gemäß der Stokes'schen Formel eine geringere Tendenz zur Sedimentation als Bakterien, es sei denn, sie sind an Trägersubstanzen adsorbiert (CADLE, 1975). In relativ sauberer Umgebung kann man Viren direkt auf Zellkulturen sedimentieren lassen oder bereits sedimentierte Viren mit zellhaltigem Medium überschichten (SPENDLOVE und FANNIN, 1982). DONALDSON et al. (1983) verwendeten die Sedimentationsmethode, um Aujeszky-Virus, das von künstlich infizierten Schweinen stammte, zu sammeln.

2.1.3.2. Filtration

Luft kann durch Filtration fast völlig von partikulären Bestandteilen befreit werden. Das Verfahren wird daher häufiger dazu verwendet, sterile oder partikelfreie Luft zu erzeugen, als Erkenntnisse über die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Mikroflora der Luft zu gewinnen.

Bei WOLF et al. (1959) findet sich eine Zusammenstellung von Luftkeimsammlern, die nach dem Prinzip der Filtration arbeiten. Als Filtermaterialien werden Membranfilter aus 150 µm dickem Zelluloseestergel, Watte und Papier angeführt. Desweiteren können Gemische aus Zellulose und Asbestfasern (DECKER et al., 1962; zitiert bei HÜBSCHLE, 1980) und hydrophobe Glasfasern (Munktell Sterilfilter MS 61, Fa. Cryo-Technik GmbH, Hamburg) verwendet werden.

Ein Nachteil der genannten Filtermaterialien ist, daß es sich häufig als schwierig erweist, die gesammelten Mikroorganismen quantitativ vom Filter in ein geeignetes Nachweissystem zu überführen.

Keine Probleme damit gibt es bei Verwendung von löslichen Filtern aus Gelatine (ROTTER et al., 1972). Durch Erwärmen auf 37°C oder Auflösen in physiologischer Kochsalzlösung erhält man eine leicht zu handhabende Suspension der gesammelten Mikroorganismen. Moderne Keimsammler, die mit Gelatinefiltern bestückt sind und im Bereich der Krankenhaushygiene eingesetzt werden, sind die Luftkeimsammler MD 2 und MD 8 der Firma Sartorius (KANZ und KANZ, 1986).

HURTIIENNE (1967) sammelte luftgetragene Stallkeime mit dem löslichen Salzfilter nach Oesterle, bei welchem die Luft durch ein Gemisch von NaCl, MgSO₄ und Na₂SO₄ gesaugt wird.

CRAIG et al. (1985) verwendeten zur quantitativen Erfassung von Poliomyelitisvirus-Aerosolen Membranfilter mit einem Porendurchmesser von 0,45 μm , die mit Glycin-Puffer (pH 3,5) befeuchtet waren. Das gesammelte Poliovirus wurde mit Glycin-Puffer (pH 10) aus dem Filter eluiert und auf empfängliche Zellkulturen verimpft. In diesem Falle beruhte die Virusretention im Filter jedoch weniger auf einer mechanischen Siebwirkung, als vielmehr auf Adsorption der Viruspartikel an das Filtermaterial.

Ein genereller Nachteil der Filtrationsverfahren ist die Dehydratation und damit oft irreversible Schädigung der gesammelten Bakterien und Viren, vor allem bei hohem Luftdurchsatz.

2.1.3.3. Impaktion

Nach diesem Verfahren arbeiten Keimsammler, in welchen die angesaugte Luft so stark beschleunigt wird, daß die in ihr enthaltenen Partikel den Luftstrom aufgrund ihrer Trägheit verlassen und sich auf festen Oberflächen absetzen.

Der bekannteste Sammler dieser Art ist der Andersen-Sammler (ANDERSEN, 1958). Das Gerät funktioniert nach dem Prinzip eines Kaskadenimpaktors, wobei die luftgetragenen Partikel nach ihrer Größe sortiert werden. Die Luft wird mit 28,3 l/min durch 6 übereinander angeordnete Siebplatten gesaugt, unter denen sich Sammelplatten als Prallflächen befinden. Der Porendurchmesser der Siebplatten nimmt von oben nach unten ab. Dadurch wird der Luftstrom von Etage zu Etage immer stärker beschleunigt. Somit impaktieren die größten Aerosolpartikel bereits auf der obersten Sammelplatte, die kleinsten erst auf der untersten.

Die Aerosolauftrennung entspricht der im Respirationstrakt insofern, als sich auf den beiden obersten Etagen nicht-lungengängige Partikel abscheiden, während von Platte 3 an nach unten alle Partikel lungengängig sind. Die Partikel der letzten 2 Platten sind alveolengängig.

Das Gerät wurde von BRACHMAN et al. (1964) als Standard-sammler vorgeschlagen.

Andere Kaskadenimpaktoren sind der Biocollecteur Joubert mit nur 3 Stufen (zitiert nach KANZ und KANZ, 1986) und der 4stufige Kaskadenimpaktor nach May, der in verschiedenen Modifikationen für die Sammlung von bakteriellen und viralen Aerosolen verwendet worden ist (zitiert nach SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

Eine weitere Gruppe von Impaktoren stellen die Schlitz-sammler dar. Bei diesen Sammlern wird die keimhaltige Luft beim Durchtritt durch einen schmalen Schlitz beschleunigt und auf eine rotierende Platte geblasen. Je nach Rotations-geschwindigkeit kann damit die Keimkonzentration in Abhängig-keit von der Zeit bestimmt werden.

Beispielhaft sollen hier der von Decker und Wilson in den 50er Jahren entwickelte Fort-Detrick-Schlitzsammler (zitiert nach WOLF et al., 1959) und als modernes Gerät der Casella-Schlitzsammler genannt werden. Der Casella-Schlitzsammler, der je nach Ausführung mit einem Luftdurchsatz von 30 oder 700 l/min betrieben wird, stellt nach KANZ und KANZ (1986) das am meisten verwendete Luftkeimerfassungsgerät dar.

Beim Andersen-Monitor (ANDERSEN und ANDERSEN, 1962) wird Luft durch eine strömungsreduzierende Düse auf eine spira-lig rotierende Trommel geblasen. Mit einem Luftdurchsatz von maximal 3 l/min wird das Gerät bei experimentellen Untersuchungen mittels definierter Testkeimstaubaerosole eingesetzt.

Der für das Sammeln unbelebter Aerosole entwickelte Roto-Rod Sampler wurde von KVITTINGEN und MAUSETH (1967) zum Sammeln luftgetragener Bakterien verwendet. Als Impaktor dient bei diesem Gerät ein schnell rotierender Metallbügel.

Beim Sammeln von Bakterienaerosolen dient stets Agar als Impaktorfläche, auf dem die gesammelten Keime nach Bebrütung als Kolonien ausgezählt werden können. Da Viren auf Nährböden nicht anzüchtbar sind, muß beim Sammeln von Virusaerosolen anders vorgegangen werden.

GUERIN und MITCHELL (1964) verwendeten den Andersen-Sammler zum Sammeln von Poliomyelitisvirus-Aerosolen. Sie benutzten dabei zunächst mit Agar überschichtete Einschicht-Zellkulturen als Impaktorfläche. Die Viren diffundierten durch den Agar, infizierten die Zellkultur und ließen sich somit nachweisen.

Wegen des großen Aufwandes, für jeden Sammelversuch empfindliche Zellen bereitzuhalten und Problemen beim Sammeln in bakteriell kontaminierter Umgebung, entwickelten dieselben Autoren später ein anderes Sammelmedium. Sie füllten die Sammelplatten mit nur 5 ml 3 %iger Gelatine, der Antibiotika und Antimykotika zugesetzt wurden. Nach dem Sammelvorgang wurde die Gelatine bei 37°C verflüssigt. Die abgeschiedenen Viren waren in der so erhaltenen Suspension leicht auf entsprechende Nachweissysteme zu verimpfen.

Die aerodynamischen Verhältnisse im Andersen-Sammler erfordern jedoch, daß jede Sammelplatte mit 27 ml eines festen Sammelmediums gefüllt ist. Um aber die abgeschiedenen Viren auch bei Verwendung eines Gelatinemediums in konzentrierter Form zu erhalten, überschichteten GERONE et al. (1966) eine Grundschicht von 21 ml Agar mit 6 ml 12 %iger Gelatine. Andere Autoren, die später diese Methode übernahmen, sind HÜBSCHLE (1980) und LUTZ (1983).

JENSEN (1964) und THORNLEY (1971) sammelten Virusaerosole mit dem Andersen-Sammler unter Verwendung fester Agarplatten. JENSEN wusch die impaktierten Viren mit 20 % Magermilch und Hanks Salzlösung von der Agaroberfläche ab und verbrachte die Virussuspension auf empfängliche Nachweissysteme. THORNLEY stürzte den Agar nach Exposition direkt auf geeignete Einschlacht-Zellkulturen um und beobachtete die Plaquebildung.

THOMAS (1970) bestrich die Sammelplatten des Andersen-Sammlers mit einer klebrigen Mischung aus Saccharose, Glycerin und bovinem Serumalbumin. Nach ihrer Exposition im Sammler gab er zum Virusnachweis eine Suspension empfindlicher Zellen zu, welche problemlos zu einem "Monolayer" auswuchsen. Das genannte Sammelmedium verwendete der Autor auch in Versuchen mit dem Schlitzsammler (Fort Detrick). Gesammelt wurden Aerosole aus Poliomyelitis- und Vaccinia-Virus.

2.1.3.4. Zentrifugation

Bei den nach diesem Prinzip arbeitenden Keimsammlern werden die gegenüber der Gasphase des Aerosols spezifisch schwereren luftgetragenen Partikel durch Einwirkung von Zentrifugalkräften abgeschieden.

Den ersten Keimsammler dieser Art konstruierte Wells im Jahre 1933 (WELLS, 1933). Bei diesem Gerät rotiert ein Glaszylinder um seine vertikale Achse. Dies bewirkt, daß ein Luftstrom durch ein axial gelegenes Rohr in das Gerät eintritt. Aufgrund der Fliehkräfte werden Aerosolpartikel gegen die mit Nährmedium beschichtete Wandung des Glaszylinders getrieben und bleiben dort haften.

Ähnlich gebaut ist die Luftzentrifuge, die Safir in den 40er Jahren entwickelte (zitiert nach JARNYCH, 1976).

Der RCS-Luftkeimsammler (Reuter Zentrifugalsammler) ist ein kommerziell erhältlicher Apparat (Biotest GmbH, Frankfurt), der wegen seiner geringen Größe, einfachen Handhabung und des netzunabhängigen Batteriebetriebs häufig für luft-hygienische Untersuchungen verwendet wird (KANZ und KANZ, 1986). Die Luft wird durch ein hochoberflächiges Flügelrad angesaugt und auf eine in den Gerätekopf eingeschobene, mit Nähragar beschichtete Folie aufgeblasen. Ein großer Nachteil dieses Sammlers ist der nicht genau meßbare Luftdurchsatz (MACHER und FIRST, 1983). Für Ein- und Austritt der Luft steht nur eine einzige Öffnung im Gerät zur Verfügung, weshalb sich die Randpartien der beiden Luftströme überlappen. Der vom Hersteller errechnete Luftdurchsatz liegt bei 40 l/min.

In die Gruppe der Zentrifugalsammler gehört schließlich noch der Zentrifugalsammler nach Schiff (KSF 70), der in Kapitel 3.1.1. ausführlich beschrieben wird.

2.1.3.5. Elektropräzipitation

Das Prinzip dieses Sammelverfahrens besteht darin, daß luftgetragene Partikel zunächst in ein Hochspannungsfeld gelangen, in dem sie negativ aufgeladen werden. Daraufhin prallen sie auf eine positiv geladene Sammelplatte, die ständig von Sammelmedium überspült wird.

Sammler, bei denen dieses Funktionsprinzip zur Anwendung kommt, sind der Litton Large-Volume Air Sampler (LVAS, Hersteller: Sci.-Med. Corp., Eden Prairie, Minn./U.S.A.) und der LEAP-Sammler (Vertrieb: Andersen Samplers Inc., Atlanta, Ga./U.S.A.). Beide Geräte sind für Luftdurchsätze von 1 bis über 10 m³/min ausgelegt und eignen sich damit hervorragend für das Sammeln gering konzentrierter Virus-aerosole unter Feldbedingungen (SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

So konnten ARTENSTEIN und MILLER (1966) mit Hilfe des LVAS Adenoviren in Räumen nachweisen, in denen sich akut respiratorisch erkrankte Rekruten befanden. WINKLER (1968) sammelte mit dem gleichen Sammlertyp luftgetragenes Tollwut-Virus in einer von Fledermäusen besiedelten Höhle in Texas.

WEKERLE (1982) verwendete den LEAP-Sammler zur Abscheidung experimentell erzeugter Aerosole aus ECBO- und Vaccinia-Virus.

2.1.3.6. Impingement

Impingement bedeutet, daß die keim- oder virusbeladene Luft in flüssigem Sammelmedium ausgewaschen wird. Bei einigen nach diesem Prinzip arbeitenden Sammlern wie z.B. dem Porton-Impinger, prallt sie zuvor auf eine Glasfläche, weil sie das Sammelmedium zunächst verdrängt.

Grundsätzlich ist zu unterscheiden zwischen sogenannten Hochgeschwindigkeitsimpingern und einfachen Luftwäschern. Bei ersteren wird die Luft durch eine kritische Öffnung angesaugt. Als solche dient in den meisten Fällen eine kapillare Verengung des Lufteinlaßrohres. Erreicht nun die durch das Ansaugen bedingte Druckdifferenz 0,5 bar, dann wird die Luft auf nahezu Schallgeschwindigkeit beschleunigt und tritt so in das Sammelmedium ein. Eine Verstärkung der Saugkraft vermag die Geschwindigkeit des Luftstroms nicht weiter zu erhöhen (MAY und HARPER, 1957). Bei den einfachen Luftwäschern wie dem Edgewood-Bubbler oder dem Venturi-Scrubber (zitiert nach TYLER und SHIPE, 1959) findet eine derartige Beschleunigung des Luftstroms nicht statt.

Der bekannteste und wegen seiner Effektivität gebräuchlichste Impinger ist der All-Glass Impinger 30 (AGI 30), der in Kapitel 3.1.2. eingehend beschrieben wird.

Ähnliche Geräte, bei denen die Kapillare des Lufteinlaßrohres nur wenige Millimeter über dem Glasboden des Sammlers endet, sind nach TYLER und SHIPE (1959) der Porton-Impinger, der Standard-Impinger und der Capillary-Impinger. Beim Bulged All-Glass-Impinger weist der Glasboden zudem eine dezentrale Auswölbung nach unten auf.

SHIPE et al. (1959) entwickelten als Alternative zum All-Glass Impinger den SHIPE-Sammler. Das Gerät besteht aus einem Erlenmeyerkolben, in dessen Wandung nahe dem Boden eine Lochdüse so eingebaut ist, daß die angesaugte Luft tangential zum Boden und tangential zur Wandung in das Sammelmedium (25 ml) eintritt. Die tangentielle Form des Impingements führte in Versuchen mit Bakterienaerosolen zu höheren Überlebensraten als das senkrechte Impingement beim All-Glass Impinger.

Um beim Sammeln mit dem Porton-Impinger die lungengängige Fraktion der Aerosolpartikel ($< 5 \mu\text{m}$) von der zu trennen, die im oberen Respirationstrakt abgefangen wird, verwendeten MAY und DRUETT (1953) den sogenannten Pre-Impinger. Dieser besteht aus einem sphärischen Glaskolben, der an seiner Vorderseite ein Loch besitzt und zur Hälfte mit Sammelmedium gefüllt wird. Der Pre-Impinger wird dem Porton-Impinger vorgeschaltet und scheidet die Fraktion der größeren Aerosolpartikel ab.

Zu einer Auftrennung der luftgetragenen Partikel in verschiedene Größenordnungen kommt es auch beim Sammeln mit dem Multistage Liquid Impinger nach May (zitiert nach SPENDLOVE und FANNIN, 1982).

Die bisher genannten Impingertypen werden mit geringen Luftdurchsätzen von durchschnittlich 10 - 12 l/min betrieben. Hohe Luftdurchsätze bis zu $0,95 \text{ m}^3/\text{min}$ werden dagegen mit den Cyclone Scrubbers erreicht. Diese sammeln Aerosolpartikel durch tangenciales Impingement auf einen

kontinuierlichen feinen Flüssigkeitsfilm, der an der zu einer Spirale gedrehten Sammlerwand entlang zu einem Reservoir fließt. Der Flüssigkeitsfilm entsteht durch Impaktion eines feinen Nebels aus Sammelmedium auf der Sammlerwand. Eine genaue Beschreibung dieses Sammlertypus und seiner Anwendung unter Feldbedingungen geben ERRINGTON und POWELL (1969).

Mit einem Cyclone-Sammler konnten DONALDSON et al. (1982) das Virus der Maul- und Klauenseuche in Ställen sammeln, in denen sich akut an der Seuche erkrankte Schweine befanden. Die unter gleichen Bedingungen erzielten Sammelergebnisse mit einem Elektropräzipitator lagen jedoch um das 2-3fache höher.

Der Spezial-Impinger (entwickelt von Prof. Dr. W. Müller, Institut für Tiermedizin und Tierhygiene, Universität Hohenheim) ist für einen Luftdurchsatz bis zu 180 l/min ausgelegt. Das Lufteinlaßrohr des Gerätes erweitert sich in seinem letzten Abschnitt trichterförmig. Die Luft tritt durch eine Siebplatte in das Sammelmedium (1 l) über. RIEF-BRENNER (1986) erbrachte in umfangreichen Untersuchungen den Beweis für eine hohe Abscheideleistung dieses Sammlers für Virusaerosole.

Als Vorteil des Impingements im Vergleich zu anderen Sammelverfahren ist zu nennen, daß beim Auswaschen der Luft in der Flüssigkeit Keimagglomerate zerteilt werden, was zu genaueren Keimzahlbestimmungen führt (KANZ und KANZ, 1986).

2.1.3.7. Thermopräzipitation

Der Thermopräzipitation liegt das Prinzip zugrunde, daß luftgetragene Teilchen von heißen Oberflächen abgestoßen werden und durch Kräfte, die proportional dem Temperaturgradienten sind, auf kälteren Oberflächen abgelagert werden.

In Thermopräzipitatoren streicht ein aerosolbeladener Luftstrom langsam an einem auf über 100°C erhitzten Glühdraht vorbei. Dabei scheiden sich die Aerosolpartikel auf Objektträgern ab und können mikroskopisch untersucht werden (GREGORY, 1973). Diese Sammler haben keinen allgemeinen Eingang in die Aerobiologie gefunden, da sie einer sehr subtilen Einstellung bedürfen und mit nur äußerst geringen Luftsammelraten von 3 - 400 ml/min arbeiten (WOLF et al., 1959).

2.2. Ausbreitung luftgetragener Viren und aerogene Virusinfektion

Viele Untersuchungen aus der Veterinär- und Humanmedizin belegen die epidemiologische Bedeutung der aerogenen Übertragung von Virusinfektionen. Die Infektion durch Aerosole pathogener Viren erfolgt hauptsächlich über die Inhalation von 0,2 - 2 µm großen Partikeln, die bis in die Lungenalveolen gelangen. Größere Partikel im Bereich von 2 - 5 µm oder darüber, die bereits im oberen Respirationstrakt hängenbleiben, werden durch die Zilien des respiratorischen Epithels in den Pharynx befördert und gelangen von dort durch Abschlucken in den Verdauungstrakt, wo sie evtl. zu einer Infektion führen können (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1979).

Die Ausbreitung luftgetragener Viren erfolgt oft über große Distanzen. Nach HUGH-JONES (1973) ist eine aerogene Ausbreitung über mehr als 500 m nachgewiesen für die Viren der Maul- und Klauenseuche, der Newcastle Disease, der Rinderpest und der Infektiösen Laryngotracheitis.

Für die Maul- und Klauenseuche geben HUGH-JONES und WRIGHT (1970) eine maximale Ausbreitung über Land von 120 - 150 km an, über dem Meer soll infektiöses Virus bis zu 1000 km weit transportiert werden können (HURST, 1968; zitiert nach HUGH-JONES, 1973). Bei leichten Winden aus wechselnden Richtungen und trockenem Wetter ist dagegen keine Ausbreitung über mehr als 2 1/2 km zu erwarten (HUGH-JONES, 1973).

Der gleiche Autor gibt für die maximale Verbreitung von infektiösem Newcastle-Disease-Virus eine Entfernung von 50 km an.

Als weitere tierpathogene Viren, die aus dem luftgetragenen Zustand isoliert worden sind, nennt DONALDSON (1978) das Marek-Virus, das Equine Herpesvirus Typ 1 und das Kaninchenpockenvirus. MACK et al. (1986) konnten infektiöses Aujeszky-Virus aus der Stallluft von Schweinebeständen isolieren, die zum Teil klinische Erscheinungen des Morbus Aujeszky zeigten, zum Teil aber nur seropositiv waren.

GLOSTER et al. (1984) untersuchten eine Serie von Ausbrüchen der Aujeszky-Erkrankung der Schweine in Yorkshire unter epidemiologischen und meteorologischen Gesichtspunkten. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß von 11 untersuchten Seuchenausbrüchen 7 von luftgetragendem Virus hervorgerufen sein konnten.

In Großbritannien wurden die Maul- und Klauenseuche und die Newcastle Disease als volkswirtschaftlich bedeutende Tierseuchen eingehend hinsichtlich ihrer aerogenen Übertragung untersucht. GLOSTER (1983a) nennt 3 Punkte, die bekannt sein müssen, um die Ausbreitung einer aerogen übertragbaren Viruserkrankung vorhersagen zu können:

- 1.) die Virusmenge, die in die Atmosphäre freigesetzt worden ist
- 2.) die Überlebensfähigkeit des Virus im luftgetragenen Zustand und die Art seiner Ausbreitung
- 3.) den Infektionsweg und die minimale Infektionsdosis.

Im Jahre 1981 kam es zu einem Ausbruch der Maul- und Klauenseuche in der Bretagne. Ausgehend von diesem Seuchenherd erfolgte eine aerogene Virusausbreitung, die zu weiteren Seuchenausbrüchen auf Jersey und der Isle of Wight führte. DONALDSON et al. (1982b) beschreiben, wie Arbeitsgruppen, die sich aus Veterinären, Meteorologen, Aerobiologen und Statistikern zusammensetzten, den Seuchenzug anhand numerischer Modelle nachvollziehen konnten. Die Autoren stellen die Rolle der Atmosphäre bei der Seuchenausbreitung heraus: Nach der Freisetzung der virushaltigen Partikel kommt es zur Bildung einer Viruswolke, die der Dispersion sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Richtung unterliegt. Hohe Viruskonzentrationen in der Wolke werden aufrechterhalten bei niedriger Windgeschwindigkeit und stabiler Atmosphäre, d.h. minimaler Konvektionsaktivität.

GLOSTER et al. (1982) nennen folgende Bedingungen für die maximale Wahrscheinlichkeit einer aerogenen Virusübertragung über große Distanzen:

- Virusfreisetzung in großen Mengen
- geringe Virusdispersion
- hohe Virus-Überlebensrate
- große Zahl empfänglicher Tiere, die dem Virus viele Stunden lang ausgesetzt sind.

SMITH (1983) versucht, das Risiko einer aerogenen Virusinfektion zu quantifizieren. Er stellt fest, daß einige Tierarten potentiell größere Ausscheider infektiöser Aerosole sind als andere, und daß innerhalb einer Art große Herden potentiell mehr infektiöses Aerosol ausscheiden als kleinere. Nach Angaben des Autors besteht bei einzelnen großen Tieren bzw. bei großen Tierherden ein höheres Risiko einer aerogenen Virusinfektion als bei einzelnen kleinen Tieren bzw. bei kleinen Herden. Dies wird mit einer unterschiedlich großen Luftsammelrate (= Atemminutenvolumen) begründet.

Tabelle 1: Größe einer Rinderherde mit hohem Risiko einer aerogenen Maul- und Klauenseuche-Infektion
(nach SMITH, 1983)

Virusquelle: 4000 Stück Rindvieh oder 1 Schwein zum Zeitpunkt maximaler Virausscheidung

Windgeschwindigkeit: 4 m/sec

Dispersion des Virus bis in eine Höhe von Herdengröße (Anzahl der Tiere), in Windrichtung von der Virusquelle entfernt

10 km 50 km 100 km

100 m	> 30	-	-
200 m	> 60	> 300	-
300 m	> 100	-	> 1000
500 m	> 150		
1000 m	> 300		

Tabelle 2: Größe einer Geflügelherde mit hohem Risiko einer
aerogenen Newcastle-Disease-Infektion
(nach SMITH, 1983)

Virusquelle: 100 Hühner

Windgeschwindigkeit: 4 m/sec

Dispersion des Virus bis in eine Höhe von	Herdengröße (Anzahl der Tiere), in Windrichtung von der Virusquelle entfernt	
	10 km	50 km

Dispersion des Virus bis in eine Höhe von	Herdengröße (Anzahl der Tiere), in Windrichtung von der Virusquelle entfernt	
	10 km	50 km
100 m	>15 000	-
200 m	>30 000	>150 000
300 m	>50 000	>250 000
500 m	>75 000	
1000 m	>150 000	

Im folgenden wird die Gefährdung des Menschen durch luftgetragene Viren angesprochen.

Bei der Abwasserverrieselung, die vielerorts zum Zwecke der biologischen Reinigung praktiziert wird, oder bei der Bewässerung von ackerbaulich genutztem Land mit Abwasser entstehen Aerosole, die Enteroviren enthalten können. TELTSCH und KATZENELSON (1978) wiesen 40 m in Windrichtung von einer Abwasserverrieselungsanlage entfernt luftgetragenes ECHO-Virus Typ 7 nach. Noch weitergehende Befunde hatten FATTAL und TELTSCH (1982). In einer Entfernung bis zu 100 m von einer Anlage zur Verregnung von Abwasser auf Ackerland sammelten sie luftgetragenes ECHO-Virus (Typ 1, 25 und 29), Poliomyelitisvirus II und Coxsackie-Virus B 1. Es ist jedoch umstritten, ob bei Menschen, die auf solchen Anlagen arbeiten, Enterovirusinfektionen tatsächlich häufiger auftreten als bei Kontrollgruppen (LANGELAND, 1985).

In der Humanmedizin finden nosokomiale Virusinfektionen zunehmende Beachtung (HARRIS et al., 1984). So berichten GUSTAFSON et al. (1982) von mehreren aerogenen Infektionen mit Varicella-Virus in einer Kinderklinik. Diese gingen von einem an Windpocken erkrankten Kind aus, das während seines gesamten Krankenhausaufenthaltes isoliert in einem Einzelzimmer lag. Dennoch erkrankten auf der gleichen Station 8 von 70 potentiell empfänglichen Kindern ebenfalls an Windpocken. Eine Untersuchung der Luftströmungen ergab, daß ein leichtes Druckgefälle vom Zimmer des Virusausscheiders zum Korridor hin bestand.

Der Ausbruch einer Rötelnepidemie auf Hawaii im Sommer 1977 wurde von MARKS et al. (1981) verfolgt. Bei der Suche nach der Quelle der Virusübertragung stießen sie auf einen akut erkrankten Pianospiele und Sänger, der in einer stark besuchten Diskothek auftrat. Die große Zahl der Krankheitsfälle, die mit diesem Musiker in Verbindung

gebracht werden, deutet nach Ansicht der Autoren darauf hin, daß die Virusübertragung während seiner Gesangsauftritte auf aerogenem Weg erfolgte und nicht durch Kontakt von Person zu Person.

Als Beispiel für ein Virus, welches normalerweise nicht aerogen übertragen wird, aber dennoch via Respirationstrakt zu einer tödlich verlaufenden Infektionskrankheit führen kann, sei abschließend das Tollwut-Virus genannt.

CONSTANTINE (1962; zitiert nach AFSHAR, 1979) berichtet über 2 Forscher, die nach einem Aufenthalt in einer von Fledermäusen bewohnten Höhle (Frio Cave, Texas) an Tollwut starben, ohne von den Fledermäusen gebissen worden zu sein oder direkten Kontakt zu diesen Tieren gehabt zu haben. Dem Autor gelang es, empfängliche Tiere mit Tollwut zu infizieren, indem er sie in geschlossenen Behältnissen, die nur Luftzirkulation zuließen, der Höhlenatmosphäre aussetzte.

WINKLER (1968) konnte in derselben Höhle mit Hilfe des Litton Large-Volume Air Samplers luftgetragenes Tollwut-Virus sammeln. Füchse, denen er eine kleine Menge Sammelmedium spritzte, erkrankten an Tollwut. Der Virusnachweis erfolgte über fluoreszeinmarkierte Antikörper und den Neutralisationstest.

2.3. Einfluß verschiedener Umweltbedingungen auf die Tenazität luftgetragener Viren

2.3.1. Relative Luftfeuchtigkeit

Viele virale Infektionskrankheiten treten zu bestimmten Jahreszeiten gehäuft auf, so z.B. die Poliomyelitis im Spätsommer, Masern und Influenza ausgangs des Winters.

HEMMES et al. (1960) bringen dieses Phänomen mit den jahreszeitlichen Schwankungen in Verbindung, denen die relative Feuchte (rel.F.) der Luft in Wohnräumen unterliegt. Ihrer Ansicht nach ist die Höhe der rel.F., die im Sommer i.a. mehr, im Winterhalbjahr jedoch weniger als 50 % beträgt, entscheidend für die Wahrscheinlichkeit einer aerogenen Virusübertragung. In experimentellen Untersuchungen an Virus aerosolen konnten die Autoren nachweisen, daß luftgetragenes Influenzavirus bei 50 - 90 % rel.F. schnell inaktiviert wird, während es bei 15 - 40 % rel.F. eine große Stabilität besitzt. Für luftgetragenes Poliomyelitisvirus fanden sie umgekehrte Verhältnisse.

DE JONG und WINKLER (1964) zeigten, daß Masernvirus aerosole bei mehr als 50 % rel.F. rasch an Infektiosität verlieren.

DE JONG et al. (1973b) leiteten aus der vergleichenden Betrachtung vieler Literaturangaben eine allgemeine Regel ab, nach der für die Tenazität eines Virus im luftgetragenen Zustand lediglich sein Gehalt an Lipid entscheidend ist:

"Lipidhaltige, d.h. behüllte Viren sind in Aerosolen im allgemeinen stabiler als lipidfreie, d.h. unbehüllte Viren und aufgrund ihrer Hydrophobie in feuchter Luft (>50 % rel.F.) labiler als in trockener. Lipidfreie Viren dagegen sind wegen ihrer Hydrophilie sehr stabil in feuchter Luft."

In gutem Einklang mit dieser Regel stehen die Versuchsergebnisse von HARPER (1961). Für Vaccinia-Virus, Influenza-virus und Venezuelanische-Pferdeenzecephalitis-Virus, die allesamt lipidhaltig sind, fand er bei niedriger rel.F. wesentlich höhere Überlebensraten als bei hoher rel.F.. Das unbehüllte Poliomyelitisvirus war dagegen bei hoher rel.F. am stabilsten.

Auch bei MILLER und ARTENSTEIN (1967) findet sich eine Bestätigung der oben zitierten Regel. Im luftgetragenen Zustand behielten unbehüllte Adenoviren bei 80 % rel.F. ihre Infektiosität länger als bei 50 oder 20 % rel.F.. Behülltes Paramyxovirus überlebte dagegen bei 20 % rel.F. am längsten.

Nach SONGER (1967) gibt es jedoch keine einzelne Eigenschaft eines Virus, die sein Verhalten bei einer bestimmten rel.F. bestimmt. Seiner Ansicht nach handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen.

SATTAR et al. (1984) vernebelten bovines Rotavirus SA 11 aus Tryptose-Phosphate-Broth und stellten fest, daß es bei 50 ± 5 % rel.F. die höchste Überlebensrate aufwies. IJAZ et al. (1985) bestätigten dieses Ergebnis in weiteren Untersuchungen. Als Vernebelungsmedium diente ihnen neben Tryptose-Phosphate-Broth auch MEM-Zellkulturmedium.

Zu gänzlich anderen Befunden führten die Versuche von MOE und HARPER (1983). Sie fanden, daß bovines Rotavirus, welches aus EMEM-Zellkulturmedium mit Earles Salzen heraus aerosolisiert worden war, bei 20 und 90 % rel.F. eine deutlich höhere Überlebensrate aufwies als bei 50 % rel.F..

ADAMS et al. (1982) untersuchten Aerosole infektiöser und potentiell infektiöser Reoviruspartikel. Das Überleben beider Partikelarten wurde bei einer hohen rel.F. von

90 - 100 % am meisten begünstigt. Am ungünstigsten wirkte sich eine mittlere rel.F. aus.

Viele Untersuchungen weisen darauf hin, daß die Auswirkung der rel.F. auf die Infektiosität luftgetragener Viren davon abhängig ist, wie lange ihr die Viren ausgesetzt sind.

SONGER et al. (1967) verwendeten als Testviren Newcastle-Disease-Virus, IBR-Virus, Vesikuläre-Stomatitis-Virus und den Phagen T 3. Anhand von Sammelp Proben, die sie nach einer Aerosolstabilisierungszeit von 2 min zogen, ermittelten sie für Newcastle-Disease-Virus und Vesikuläre-Stomatitis-Virus die beste Überlebensrate bei 10 % rel.F.. IBR-Virus und Phage T 3 waren dagegen bei 90 % rel.F. am stabilsten. Aus Sammelp Proben, die noch während des Vernebelns oder unmittelbar danach gewonnen worden waren, ergab sich jedoch für alle Testviren bei 90 % rel.F. die beste Überlebensrate.

ELEZHARY und DERBYSHIRE (1976) vernebelten IBR-Virus aus MEM-Zellkulturmedium und aus Nasensekret von Kälbern. Während des Vernebelns war das Virus bei 90 % rel.F. stabiler als bei 30 % rel.F., doch ergaben sich nach einer Aerosollagerzeit von bis zu 3 Stunden bei 90 % rel.F. höhere Infektiositätsverluste als bei 30 % rel.F.. Allgemein zeigte das Virus in Aerosolen aus Nasensekret eine größere Tenazität als in Aerosolen aus MEM-Zellkulturmedium.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen DONALDSON und FERRIS (1976) mit einer Vielzahl von Viren. Für das Virus der Afrikanischen Schweinepest und Parainfluenza-3-Virus war 1 sec nach der Aerosolerzeugung unabhängig von der vorherrschenden rel.F. die Überlebensrate gut. 5 min nach der Aerosolerzeugung wurden sie bei einer rel.F. von mehr als 30 % rasch inaktiviert. Pferdearteritis-Virus, Vesikuläre-Stomatitis-Virus, Equines Herpesvirus 1, Felines Herpes-

virus und IBR-Virus erwiesen sich in der Anfangsphase der Aerosoläquilibriumierung bei jeder rel.F. als mäßig stabil. Waren sie jedoch einer hohen rel.F. 5 min lang ausgesetzt, kam es zu großen Infektiositätsverlusten. Das Equine Rhinovirus war das einzige unbehüllte Testvirus der Autoren und das einzige, das gut bei hoher und schlecht bei niedriger rel.F. überlebte.

Nach BENBOUGH (1969) hat die rel.F. auf aus Zellkulturüberständen vernebeltes Semliki-Forest-Virus bei einer Aerosollagerzeit bis zu 4 Stunden keine Auswirkung. Bei noch längerem Verbleiben im luftgetragenen Zustand begünstigt jedoch nach seinen Angaben eine geringe rel.F. die Erhaltung der Infektiosität.

RABEY et al. (1969) konnten bei bis zu 6 Stunden alten Aerosolen aus St. Louis-Enzephalitis-Virus keinen Einfluß der rel.F. auf die Infektiosität des Virus nachweisen.

BENBOUGH (1969) verweist auf die Bedeutung des Vernebelungsmediums für die Stabilität von luftgetragenen Semliki-Forest-Virus. Er erzielte mit entsalzten Vernebelungssuspensionen gegenüber solchen aus nativen Zellkulturüberständen höhere Überlebensraten bei jeder rel.F.. Bei seinen Versuchen stellte er weiterhin fest, daß externes Protein essentiell für das Überleben bei hoher rel.F. war, und daß Polyhydroxyverbindungen wie z.B. Inosit bei niedriger rel.F. eine Schutzfunktion auf das Virus ausübten.

Zu qualitativ gleichen Aussagen kam der Autor (BENBOUGH, 1971) nach Aerosolversuchen mit Langat-Virus.

Schon WEBB et al. (1963) hatten bei ihren Experimenten mit Aerosolen aus Taubenpockenvirus und Rous-Sarkom-Virus erkannt, daß die Zusammensetzung des Vernebelungsmediums einen entscheidenden Einfluß auf die Empfindlichkeit luft-

getragener Viren gegenüber einer unterschiedlich hohen rel.F. hat. Sie erzeugten Aerosole aus wäßrigen Virussuspensionen und konnten nach 5 Stunden unabhängig von der rel.F. noch 80 % des vernebelten Taubenpockenvirus zurückgewinnen. Mit Rous-Sarkom-Virus erzielten sie ähnlich hohe Rückgewinnungsraten nur bei Werten der rel.F. über 60 %. Bei 30 % rel.F. ließ sich schon nach 3 Stunden kein infektiöses Virus mehr nachweisen.

Wurde Rous-Sarkom-Virus aus 0,005 m Zitratpuffer (pH 7) vernebelt, kehrten sich die Verhältnisse insofern um, als nun die Überlebensrate des Virus bei niedriger rel.F. besser als bei hoher war. Nach Versprühen aus einer 6 %igen Inositolösung konnten die Autoren unabhängig von der Höhe der rel.F. und der Dauer der Aerosollagerung mehr als 80 % des Virus zurückgewinnen.

Den Einfluß der rel.F. auf die Infektiosität von luftgetragenen Virus der Maul- und Klauenseuche untersuchte DONALDSON (1972). Virus, das nach Suspension in Rinderspeichel vernebelt wurde, behielt seine Infektiosität am längsten bei hoher rel.F. über 60 %. Spätere Versuche (DONALDSON, 1973) zeigten für in Milch bzw. Flüssigmist suspendiertes Virus eine signifikant höhere Aerosolstabilität als für in Speichel suspendiertes. In jedem Fall kam es während der ersten 10 min nach Aerosolerzeugung zu einem steilen Abfall der Infektiosität, der sich in den folgenden 50 min des Beobachtungszeitraums stark abflachte.

2.3.2. Temperatur

Die meisten Viren sind gegenüber Wärme relativ labil (ROLLE und MAYR, 1984). Daß dies generell auch im luftgetragenen Zustand gilt, geht aus einer Vielzahl von Untersuchungen hervor.

Bei SONGER (1967) wies Newcastle-Disease-Virus in Aerosolen bei 4°C eine geringere Inaktivierungsrate auf als bei 23°C. Der Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit machte sich jedoch stärker bemerkbar als der Einfluß der Temperatur.

In Aerosolversuchen mit dem Virus der Venezuelanischen Pferdeenzephalitis fanden EHRLICH und MILLER (1971) für den Temperaturbereich von -40 bis +24°C mittlere Infektiositätsverluste von 0,3 % pro min. Diese Verluste stiegen bei 49°C auf das 10fache an. Gleichzeitig nahm die Empfindlichkeit gegenüber einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit zu. Virus, das im lyophilisierten Zustand vernebelt wurde, zeigte sich gegenüber hohen Temperaturen eindeutig weniger empfindlich als solches aus wäßrigen Suspensionen.

ELEZHARY und DERBYSHIRE (1977) untersuchten die Aerosolstabilität von IBR-Virus bei 6 und 32°C. Sie ermittelten, daß unabhängig von der Art der Vernebelungssuspension und von der relativen Luftfeuchtigkeit die höhere Temperatur zu einer schnelleren Virusinaktivierung führte als die niedrigere.

Auch die Ergebnisse der Versuche von MOE und HARPER (1983) bestätigen die schädigende Wirkung hoher Temperaturen auf luftgetragene Viren. Bovines Rotavirus war in allen Versuchen bei 10°C stabiler als bei 20 oder 30°C.

2.3.3. Ultraviolette Strahlung und Licht

Studien über die Wirkung ultravioletter Strahlung auf luftgetragene Viren ergaben eine hohe Inaktivierungsrate für Cocksackievirus B 1, Influenza-A-Virus, Sindbis-Virus und Vaccinia-Virus. Eine geringfügig niedrigere Inaktivierungsrate wurde für Adenovirus Typ 2 gefunden (JENSEN, 1964).

Bei DMITRIEV (1967; zitiert nach JARNYCH, 1976) wurden Grippevirus- und Adenovirusaerosole durch Bestrahlung mit einer UV-Lampe in 10 bzw. 3 - 5 min inaktiviert, während die Inaktivierungszeit unbestrahlter Aerosole 4 bzw. 3 Stunden betrug.

Schon HARPER (1963) gibt einen Hinweis auf die Möglichkeit, daß sichtbares Licht bei der Inaktivierung luftgetragener Viren eine Rolle spielt.

In den Versuchen von APPELYARD (1967) inaktivierten langwellige UV-Strahlung und sichtbares Licht (330 - 470 nm Wellenlänge) in einem Zeitraum von 4 Stunden zwar Sindbis-Virus, Murray-Valley-Enzephalitis-Virus, Influenzavirus und Kaninchenpockenvirus, aber nicht Poliomyelitisvirus. Der Autor schließt aus eigenen und anderen Ergebnissen auf eine Korrelation zwischen Virusgruppe und Photosensibilität, wonach Arbo- und Myxoviren photosensibel und Picornaviren photoresistent sein sollen. Den Pockenviren spricht er eine nur mittelgradige Photosensibilität zu. Als Mechanismus nennt er die Photooxidation der zuvor sensibilisierten viralen Nukleinsäure.

Die Infektiosität von Maul- und Klauenseuche-Virus wird nach DONALDSON und FERRIS (1975) durch Tageslicht und natürliche UV-Strahlung kaum beeinflusst. Die Autoren weisen aber darauf hin, daß bestimmte Substanzen im Vernebelungsmedium wie Riboflavin oder Vitamin A möglicherweise photosensibilisierend wirken können.

GLOSTER (1983b) gibt an, daß die durch Lichtexposition bedingte Inaktivierung von luftgetragendem Newcastle-Disease-Virus proportional dem Produkt aus Lichtintensität und Einwirkungszeit ist.

2.3.4. Atmosphärische Gase

Eine negative Korrelation zwischen Sauerstoffgehalt der Luft und Überlebensfähigkeit luftgetragener Bakterien - insbesondere bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit - geht aus vielen Arbeiten hervor (zitiert bei ANDERSON und COX, 1967).

Dagegen scheinen luftgetragene Viren durch den Luftsauerstoff nicht geschädigt zu werden. BENBOUGH (1971) fand beim Vergleich der Überlebensraten von Semliki-Forest-Virus, Langat-Virus, Poliomyelitisvirus und Coliphage T 7 in Luft und einer reinen Stickstoffatmosphäre keine Unterschiede. Zu den gleichen Ergebnissen mit luftgetragendem Poliomyelitisvirus waren zuvor schon DE JONG und WINKLER (1968) gekommen. AKERS (1973) konnte bei Enzephalomyokarditis-Virus keine sauerstoffabhängige Inaktivierung beobachten. DE JONG et al. (1976) stellten schließlich fest, daß auch die Aerosolinaktivierung von Semliki-Forest-Virus ohne Beteiligung von Luftsauerstoff vor sich geht.

EHRlich und MILLER (1972) untersuchten den Einfluß von NO_2 auf luftgetragenes Virus der Venezuelanischen Pferdeencephalitis bei 24°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 85 %. Während 0,05 ppm des Gases noch nicht zu einer erhöhten Inaktivierungsrate führten, wirkten 5 oder gar 10 ppm toxisch. Die Inaktivierungsrate stieg um den Faktor 3 bzw. 10.

BERENDT et al. (1971 und 1972; zitiert nach AKERS, 1973) beobachteten eine toxische Wirkung von 0,4 ppm SO_2 in der

Luft auf Venezuelanisches-Pferdeenzecephalitis-Virus. Der viruzide Effekt ließ sich durch Sonneneinstrahlung abschwächen, durch Erhöhung der Luftfeuchtigkeit aber stark erhöhen.

Die virusschädigende Wirkung von NO_2 und SO_2 ist nach Ansicht der genannten Autoren auf die Denaturierung von Kapsidproteinen durch Säuren zurückzuführen, die sich vor allem bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit aus den beiden Gasen bilden.

2.3.5. Open Air Factor

Der Begriff "Open Air Factor" (OAF) wurde von DRUETT und MAY (1968, zitiert nach DRUETT, 1973) geprägt. Die Autoren setzten auf Mikrofäden (Durchmesser $< 1 \mu\text{m}$) abgelagerte bakterienhaltige Aerosolpartikel der umgebenden Luft aus. Sie stellten fest, daß im Freien pro Minute etwa 10 % der Bakterien abstarben, während innerhalb einer umschlossenen Kammer - bei gleicher Temperatur und gleicher relativer Luftfeuchtigkeit - die Verluste nur wenige Prozent pro Stunde betrugen. Da die Durchführung der Versuche nach Einbruch der Dunkelheit es ermöglichte, Licht und UV-Strahlung als schädigende Agentien auszuschließen, zogen sie die Schlußfolgerung, daß in der freien Atmosphäre ein oder mehrere keimtötende Stoffe existieren, die in geschlossenen Behältnissen nicht zur Wirkung kommen, weil sie an die Wände des Behältnisses adsorbiert werden.

Die Vermutung, daß Olefine, die aus Verbrennungsprozessen und Industrieemissionen freigesetzt werden, nach Reaktion mit dem Ozon der Atmosphäre zumindest einen Teil des OAF ausmachen, wurde von NASH (1973) experimentell bestätigt. Dafür spricht auch, daß der keimtötende Effekt der Luft über Ballungsräumen ausgeprägter ist als über Landstrichen mit nur geringer Besiedelung (HARPER, 1973).

In Laborversuchen hatten Terpene, die natürlicherweise von in die Aerosolkammer verbrachten Koniferen abgegeben wurden, nach Zugabe von Ozon eine erniedrigte Überlebensrate von *E. coli* und Phage T 7 zur Folge. Freilandversuche in der Nähe großer Nadelwälder bestätigten dieses Ergebnis jedoch nicht. Ein Anteil der Terpene und ihrer Reaktionsprodukte am OAF konnte somit nicht nachgewiesen werden (HARPER, 1973).

BENBOUGH und HOOD (1971) prüften die viruzide Wirkung der Außenluft auf die Coliphagen T 1 und T 7 und Semliki-Forest-Virus. Dazu exponierten sie einerseits auf Mikrofäden haftende Aerosolpartikel im Freien, andererseits hielten sie Virusaerosole in einer kugelförmigen Aerosolkammer, in der entsprechende Belüftung zu einem mehrfachen Luftaustausch pro Stunde führte. Durch den häufigen Luftwechsel ließ sich der OAF auch in der Kammer erhalten. Für luftgetragenes Semliki-Forest-Virus ergab sich bei Belüftung der Aerosolkammer eine Inaktivierungsrate von 1,3 - 1,5 % pro min gegenüber nur 0,1 % pro min ohne Belüftung. Auch die Inaktivierungsraten der auf Mikrofäden exponierten Coliphagen waren im Freien bei Anwesenheit des OAF höher als in einer geschlossenen Kammer.

DONALDSON und FERRIS (1975), die das Virus der Maul- und Klauenseuche ebenfalls auf Mikrofäden exponierten, fanden, daß der OAF nur einen unwesentlichen Einfluß auf die Infektiosität des Virus hatte.

2.4. Inaktivierungsmechanismen bei luftgetragenen Viren

Aus wäßrigen Lösungen entstandene Aerosoltröpfchen sind wegen der raschen Verdunstung in dampfungesättigter Luft nicht stabil. Ausmaß und Geschwindigkeit der Verdunstung sind von der Art und Menge der im Aerosoltröpfchen gelösten Salze und von der vorherrschenden relativen Luftfeuchtigkeit abhängig. In dieser Äquilibrierungsphase kommt es zur Einstellung eines Gleichgewichts zwischen Aerosolpartikel und umgebender Luft (JARNYCH, 1976).

Bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit liegen Aerosole, die aus Salzlösungen erzeugt werden, als Tröpfchen vor, deren Salzkonzentration von der relativen Luftfeuchtigkeit bestimmt wird. Die Aerosoltröpfchen bestehen meistens aus hochkonzentrierten Salzlösungen; ihre Oberfläche ist im Verhältnis zu ihrem Volumen sehr groß. Diese 2 Faktoren lassen vermuten, daß in den Tröpfchen enthaltene Viren entweder durch die Toxizität der konzentrierten Salze oder durch Oberflächeninaktivierung im Grenzbereich zwischen Flüssigkeit und Gas inaktiviert werden.

Wenn dagegen der Dampfdruck der umgebenden Luft geringer ist als der Dampfdruck einer gesättigten Lösung der in der Vernebelungssuspension vorhandenen Salze, werden aus den Aerosoltröpfchen feste Aerosolpartikel. Dies ist in der Regel bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit der Fall. In den Aerosolpartikeln enthaltene Viren werden durch Dehydratation inaktiviert, d.h. es kommt zur Proteindenaturierung durch Verlust von Strukturwassermolekülen aus dem Viruskapsid (TROUWBORST und DE JONG, 1973).

DE JONG (unveröffentlicht, zitiert nach DE JONG et al., 1973b) stellte fest, daß Poliomyelitisvirus bei Inkubation in gesättigten Lösungen von LiCl , CaCl_2 , MgCl_2 , Kalium-

azetat und in reinem Glycerin bei Zimmertemperatur rasch inaktiviert wurde.

Aus ihren Versuchen mit Rous-Sarkom-Virus schlossen schon WEBB et al. (1963) auf einen toxischen Effekt von Salzen in der Vernebelungssuspension. BENBOUGH (1969) fand, daß luftgetragenes Semliki-Forest-Virus besonders bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit eine deutlich größere Stabilität besaß, wenn das Vernebelungsmedium entsalzt worden war. Ähnliche Ergebnisse hatte er in seinen Versuchen mit Langat-Virus (BENBOUGH, 1971).

Erhöhte Inaktivierungsraten von Virusaerosolen, die aus salzhaltigen Medien erzeugt werden, gehen indes in der Regel nicht auf eine direkte toxische Wirkung der Salze zurück. Das zeigen die Versuche von TROUWBORST und KUYPER (1974) mit dem Bakteriophagen T 3. Die Autoren konnten die Aerosolstabilität des Phagen, der aus einer 0,1 molaren Kochsalzlösung vernebelt wurde, durch Zusatz von 0,1 % Pepton zur Vernebelungssuspension deutlich steigern. Besonders ausgeprägt war dieser Effekt bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit. Der Phage war stabil bei Inkubation in einer 2,6 molaren Kochsalzlösung, wurde jedoch bei Belüftung der Lösung rasch inaktiviert. Der Zusatz von 0,1 % Pepton konnte auch hier eine Inaktivierung verhindern.

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß der Phage T 3 nach dem Mechanismus der Oberflächeninaktivierung an Grenzschichten zwischen Luft und Flüssigkeit inaktiviert wurde.

Gleichartige Experimente führten TROUWBORST und DE JONG (1973) mit dem Phagen MS 2 durch. Als weitere Substanzen, die luftgetragene Viren vor der Oberflächeninaktivierung zu schützen vermögen, nennen sie Oxyäthylendocosyläther und die Aminosäure Phenylalanin. Die Aminosäure erweist sich ihren Angaben zufolge jedoch als toxisch, wenn sie

der Vernebelungssuspension in so hoher Konzentration zugesetzt wird, daß sie in den Aerosoltröpfchen auskristallisiert.

Auch Carboxylsäuren, insbesondere Caprinsäure, können die Oberflächeninaktivierung verhindern (TROUWBORST et al., 1974). BENBOUGH (1969) verweist auf die große Bedeutung, die externes Protein in der Vernebelungssuspension für die Stabilisierung von luftgetragendem Semliki-Forest-Virus bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit hat.

Die Ursache für die Oberflächeninaktivierung ist darin zu sehen, daß hydrophobe Teile eines Virus, wie z.B. die Lipide der Virushülle, dazu tendieren, sich in der Luftphase eines Aerosols anzusammeln, was zu einer Adsorption der Viren an die Oberfläche der Aerosoltröpfchen führt. Von der Oberflächenspannung ausgehende Scherkräfte können eine irreversible Auffaltung und Neuordnung von Proteinketten und anderen Makromolekülen bewirken. Die Schutzwirkung der oben genannten Substanzen kommt dadurch zustande, daß diese sich anstelle der Viren an der Grenze zwischen flüssiger und fester Aerosolphase ansammeln (TROUWBORST et al., 1974).

Dieselben Autoren stellten bei der Belüftung von Suspensionen verschiedener Viren fest, daß das Ausmaß der Oberflächeninaktivierung abhängig war vom Salzgehalt des Suspensionsmediums. Zur Erklärung dieses Phänomens führen sie an, daß gelöste Salze die Adsorption von Viren an die Oberfläche von Aerosoltröpfchen fördern, indem sie die Oberflächenspannung erhöhen und die elektrostatische Abstoßung vermindern.

Um die Empfindlichkeit einiger Viren gegenüber der Oberflächeninaktivierung zu überprüfen, belüfteten DONALDSON und FERRIS (1976) Virussuspensionen in 10-ml-Portionen 60 min lang mit 4,7 l/min. Sie stellten fest, daß alle

lipidhaltigen Testviren dabei ihre Infektiosität verloren, während alle unbehüllten Testviren stabil waren.

Bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit wirken nach WEBB et al. (1963) 6 % Inosit in der Vernebelungssuspension protektiv auf luftgetragenes Rous-Sarkom-Virus. BENBOUGH (1969) schreibt aufgrund seiner Versuche mit Semliki-Forest-Virus auch anderen Polyhydroxyverbindungen wie Raffinose, Glucose und Glycerin eine derartige Schutzfunktion zu.

Die Inaktivierung von Virusaerosolen bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit durch Dehydratation kann reversibel sein. HATCH und WARREN (1969) untersuchten Aerosole des Coliphagen T 3 und des Bakteriophagen von Pasteurella pestis. Bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit konnten sie die durch die Instabilität beider Phagen bedingte geringe Sammel- ausbeute mit dem AGI 30 um $3 - 4 \log_{10}$ steigern, indem sie dem Sammler einen Befeuchtungskolben vorschalteten, in dem eine Luftfeuchtigkeit von annähernd 100 % herrschte. Da eine solche Aerosolbefeuchtung ("Prehumidification") auch im Respirationstrakt von Mensch und Tier stattfindet, lassen andere Sammelmethode nach Ansicht der Autoren keinen genauen Rückschluß zu, wieviele potentiell infek- tiöse Viruspartikel in einem Aerosol enthalten sind.

WARREN et al. (1969) fanden einen eindeutig positiven Effekt der "Prehumidification" auf die Sammelergebnisse mit den Phagen T 3 und S-13. Die Sammelausbeuten an Mengovirus 37 A und dem Virus der Vesikulären Stomatitis ließen sich auf diese Weise aber nicht erhöhen, sondern nahmen sogar leicht ab. Die Autoren folgerten aus ihren Ergebnissen, daß die Auswirkung der "Prehumidification" auf Viren, die bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit labil sind (Phagen, Mengovirus 37 A), von Fall zu Fall verschieden ist, und daß mit Viren, die bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit rasch inaktiviert werden (Vesikuläre- Stomatitis-Virus), mittels "Prehumidification" noch schlechtere Sammelraten erzielt werden.

Bezüglich des Angriffspunktes der Inaktivierungsmechanismen am Virion vertreten WEBB et al. (1963) die Ansicht, daß primär die Nukleinsäure geschädigt wird.

DE JONG (1970) fand, daß bei luftgetragendem Poliomyelitisvirus die RNS parallel mit dem Rest des Virus zugrunde ging. Die RNS von Enzephalomyokarditisvirus blieb bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit jedoch länger stabil als das komplette Virion. Er schloß daraus, daß die Inaktivierung am Proteinmantel des Virus angreift. Für die beobachtete Inaktivierung der RNS von Poliomyelitisvirus machte er die mögliche Anwesenheit nukleinsäurespaltender Enzyme in der Vernebelungssuspension verantwortlich.

Dies deckt sich mit den Ergebnissen von AKERS und HATCH (1968), welche Aerosole aus Mengovirus 37 A und seiner infektiösen RNS bei verschiedenen relativen Luftfeuchtigkeiten testeten. Vollständige Virionen verloren bei etwa 50 % relativer Luftfeuchtigkeit rasch ihre Infektiosität, während freie RNS unabhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit stabil blieb. Die Autoren äußern aber die Vermutung, daß mit Protein assoziierte RNS weniger stabil ist als freie RNS und nach Denaturierung des Proteins ihrerseits geschädigt wird.

Qualitativ gleichwertige Ergebnisse hatten DE JONG et al. (1973a) mit Poliomyelitisvirus, dessen Aerosolverhalten sie bei niedriger und mittlerer relativer Luftfeuchtigkeit mit dem seiner infektiösen RNS verglichen.

DE JONG et al. (1976) konnten in ihren Versuchen mit Semliki-Forest-Virus zeigen, daß auch bei der Aerosolinaktivierung behüllter Viren die Nukleinsäure ihre Infektiosität unabhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit länger behält als das komplette Virion.

Schließlich sprechen auch die Untersuchungen von ADAMS et al. (1982) über die Aerosolstabilität infektiöser und potentiell infektiöser Reoviruspartikel dafür, daß die primäre Schädigung am Virusprotein stattfindet, und die Nukleinsäure erst sekundär in Mitleidenschaft gezogen wird.

2.5. Testviren

Die für die eigenen Untersuchungen verwendeten Virusarten werden nachstehend in Anlehnung an ROLLE und MAYR (1984) beschrieben.

2.5.1. ECBO-Virus

Das ECBO-Virus (Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan) wird innerhalb der Familie Picornaviridae dem Genus Enterovirus zugeordnet. Es handelt sich um unbehüllte Virionen von 22 - 30 nm Größe, die eine einsträngige positive RNS besitzen. Die Symmetrie des Kapsids ist ikosaedrisch.

Das ECBO-Virus ist weltweit verbreitet. Der natürliche Wirt ist das Rind. Infektionen verlaufen im allgemeinen klinisch inapparent. Die den Infektionen mit ECBO-Virus aufgrund klinischer Beobachtungen zugeordneten Krankheitsbilder - Diarrhoe bei Kälbern, respiratorische Symptome und in Ausnahmefällen Vaginitis und Balanoposthitis - haben sich bisher experimentell nicht erzeugen lassen.

2.5.2. IBR/IPV-Virus

Das IBR/IPV-Virus (Bovines Herpesvirus Typ 1) gehört innerhalb der Familie Herpesviridae zur Subfamilie Alphaherpesvirinae. Es handelt sich um ein behülltes Virus mit ikosa-

edrischem Nukleokapsid. Der Gesamtdurchmesser des Virions beträgt zwischen 120 und 200 nm. Die Nukleinsäure liegt in Form einer unsegmentierten, linearen, doppelsträngigen DNS vor.

Die IBR/IPV (Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis) ist eine akute, hochkontagiöse Infektionskrankheit des Rindes, die sich entweder im oberen Respirationstrakt mit Tracheitis und Rhinitis bzw. als fieberhafte Allgemeinerkrankung mit respiratorischen Symptomen (IBR) oder als genitales Syndrom mit Vulvovaginitis (IPV) bzw. Balanoposthitis manifestieren kann.

Je nach dem, wie sich das Virus adaptiert hat, tritt in einem Bestand entweder die respiratorische oder die genitale Erkrankungsform auf, selten beide gleichzeitig. Die Übertragung der respiratorischen Form erfolgt vor allem direkt durch Nasen- und Augensekret, die der genitalen durch Kontakt beim Geschlechtsakt und durch Sperma.

2.5.3. Newcastle-Disease-Virus

Innerhalb der Familie Paramyxoviridae gehört das Newcastle-Disease-Virus (ND-Virus) zum Genus Paramyxovirus. Die behüllten Virionen sind pleomorph und haben einen Durchmesser von etwa 150 nm; filamentöse Formen werden bis zu 1 µm lang. Das Nukleokapsid ist helikal-symmetrisch aufgebaut bei einem Durchmesser von 18 nm. Die Nukleinsäure liegt als einsträngige RNS vor.

Die Newcastle Disease ist eine hochkontagiöse Infektionskrankheit, die unter natürlichen Bedingungen vor allem bei Hühnervögeln (Haushuhn, Pute, Perlhuhn, Pfau) zu schweren Verlusten führt. Daneben umfaßt das Infektionsspektrum aber noch viele andere Vogelarten wie Fasane, Rebhühner,

Wachteln, Tauben, Gänse und Enten. Ferner kommen Erkrankungen auch bei Spatzen, Staren, Eulen, Dohlen, Papageien, Pinguinen und Straußen vor. Die Newcastle Disease ist eine Zoonose; die Infektion des Menschen ist nicht selten.

Zwischen den einzelnen Virusstämmen gibt es starke Virulenzunterschiede: man kennt lentogene (schwach bis avirulente), mesogene (mittelgradig virulente) und velogene (stark virulente) Stämme. Der akute Krankheitsverlauf ist durch septikämische Allgemeinsymptome, erschwerte Atmung, Kreislaufstörungen sowie starke Durchfälle gekennzeichnet, während bei der chronischen Verlaufsform zentralnervöse Erscheinungen im Vordergrund stehen.

2.5.4. Vaccinia-Virus

Das Vaccinia-Virus, auch Orthopoxvirus commune genannt, gehört zur Familie Poxviridae. Pockenviren sind quaderförmig, etwa 390 x 260 nm groß. Die behüllten Virionen sind komplex aufgebaut. Sie besitzen als Nukleinsäure eine unsegmentierte doppelsträngige DNS.

Das Vaccinia-Virus hat einerseits Bedeutung für die Herstellung von Impfstoffen gegen die Menschenpocken (Variola), andererseits ist es ein virulenter Infektionserreger, der bei fast allen Tierarten, besonders bei Säugern, haften und zumindest lokale Pockenerkrankungen hervorrufen kann. Besonders empfänglich sind Rinder, Pferde, Schweine, Kaninchen, Schafe, Ziegen, Kamele und Elefanten. Die Prognose bei Infektionen mit Vaccinia-Virus ist jedoch günstig.

3. Material und Methoden

3.1. Keimsammler

3.1.1. Der Zentrifugalsammler nach Schiff (KSF 70)

Der KSF 70 (Fa. Filba, Adolf Reuter KG, Marburg/Lahn) besteht aus einem Gehäuse, welches die elektrischen und feinmechanischen Bauteile sowie die Bedienungselemente des Geräts beherbergt, und einem zerlegbaren Aufsatz, in dem sich der eigentliche Sammelvorgang abspielt.

3.1.1.1. Beschreibung des Gehäuses (Abb. 1 bis 3)

Das Gehäuse stellt einen Kasten (Breite x Höhe x Tiefe = 20 cm x 23 cm x 22 cm) aus eloxiertem Aluminium dar. Im Innern befinden sich 2 Elektromotoren. Über den einen werden Trommel und Lüfterrad des Aufsatzes (vgl. Kapitel 3.1.1.2.) in Rotation versetzt, der andere ist für den Betrieb der an der rechten Gehäuseseite installierten Schlauchpumpe (21) vorgesehen. An der Frontseite des Gehäuses befinden sich folgende Anzeigegeräte und Bedienungselemente:

- Ein/Aus Schalthebel (1) für den Motor, der Trommel und Lüfterrad in Rotation versetzt, mit zugehöriger Kontrollleuchte (3)
- Ein/Aus Schalthebel (2) für den Schlauchpumpenmotor mit zugehöriger Kontrolleuchte (4)
- Luftdurchsatzmeßgerät (5)
- Drehzahlmesser (6) für Trommel und Lüfterrad
- Luftdurchsatzregler (7)
- Potentiometer (8) zur Regelung der Drehzahl von Trommel und Lüfterrad
- Schaltuhr (9)

Auf dem Dach des Gehäuses befindet sich eine runde schalenartige Konsole (11) aus Aluminium, welche den Sammleraufsatz trägt. Zentral ragt eine Achse (13) in die Konsole hinein. Desweiteren findet sich exzentrisch im Konsolenboden eine Öffnung (12), welche über eine im Gehäuse liegende Schlauchleitung mit dem Luftauslaßstutzen (10) verbunden ist.

3.1.1.2. Beschreibung des Aufsatzes (Abb. 4 bis 8)

Den Kern des Aufsatzes bilden eine Trommel (15) aus V2A-Stahl (Durchmesser der Bodenfläche 14,5 cm) und ein sich konzentrisch in dieser befindliches Lüfterrad (17) aus eloxiertem Aluminium mit 12 turbinenartig angeordneten Lüfterflügeln. Trommel und Lüfterrad werden auf die in die Konsole hineinragende Achse (13) aufgesteckt und festgeschraubt.

Um diese zentralen Teile verläuft ein zweiteiliger runder Aluminiumrahmen (Außendurchmesser 20 cm). Das Unterteil des Rahmens (14) ruht auf der Konsole des Gehäusedaches. Zusammen mit dem Oberteil (16) bildet es eine an der Innenseite offene Ringkammer, in die der obere Rand der Trommel (15) frei schwebend hineinragt. Der Abfluß aus der Ringkammer erfolgt über den Auslaufstutzen (22).

Nach oben wird der Sammleraufsatz durch einen aus Aluminiumblech gepreßten Deckel (18) abgeschlossen. Dieser ist von nach oben gewölbter Form und weist zentral eine trichterförmige Einziehung auf, die bis zur Deckelbasis hinabreicht und hier in eine Öffnung von 2,4 cm Durchmesser mündet. Der Deckel wird mittels zweier Schraubklemmen in seiner Lage fixiert.

Um den für den Feldeinsatz konzipierten Sammler über einen Flansch oder eine Schlauchleitung an eine Aerosolkammer anschließen zu können, wurde ein Rohrstück (19) aus V2A-Stahl mittels Silikon-Dichtungsmasse in die trichterförmige Einziehung des Deckels (18) eingesetzt. In der Wandung des Rohrstücks (19) liegt eine Bohrung, durch welche das Zuleitungs-Röhrchen (20) für das Sammelmedium in den Sammleraufsatz eintritt. Im Innern des Aufsatzes endet es zentral dicht über dem Lüfterrad. Ursprünglich war das Zuleitungs-röhrchen (20) an einem Metallbügel befestigt, welcher sich über den Deckel (18) spannte. Der bei den Kammerversuchen funktionslos gewordene Metallbügel ist auf den Abbildungen nicht zu sehen.

3.1.1.3. Funktionsweise und Handhabung des Geräts (Abb. 1 bis 8)

Der KSF 70 wird an ein Netz von 220 V Wechselstrom angeschlossen.

Über einen Elektromotor werden Trommel (15) und Lüfterrad (17) in Rotation versetzt. Die turbinenartig angeordneten Lüfterflügel bewirken dabei einen Sog, der Luft durch die Öffnung des Deckels (18) in den Sammler hereinzieht. Die angesaugte Luft erfährt sodann eine zentrifugale Beschleunigung und wird mit den in ihr enthaltenen Aerosolpartikeln gegen die Trommelwandung geschleudert. Nach Passieren der Öffnung (12) im Konsolenboden verläßt die Luft das Gerät wieder über den Luftauslaßstutzen (10).

Gleichzeitig fördert die Schlauchpumpe (21) über das Zuleitungs-Röhrchen (20) Sammelmedium, welches durch die Rotationen des Lüfterrades ebenfalls gegen die Trommelwandung getrieben wird, an dieser aufsteigt und in die Ringkammer des Rahmens überläuft. Das Sammelmedium verläßt das Gerät über den Auslaufstutzen (22).

Während des Sammelvorgangs besteht also an der inneren Trommelwandung ein dünner Film von Sammelmedium, auf welchen luftgetragene Partikel impaktiert werden.

Was den Fluß des Sammelmediums angeht, so gibt es 2 verschiedene Betriebsarten (Sammelmodi):

- a) Das Sammelmedium läuft "im Kreislauf" durch das Gerät, d.h. es wird kontinuierlich in dasselbe Gefäß abgegeben, aus dem es ebenso kontinuierlich entnommen wird. Je nach Sammelzeit zirkuliert das Sammelmedium also verschieden oft.

Der Vorteil dieses Sammelmodus liegt darin, daß man auch bei langen Sammelzeiten mit einer kleinen Menge Sammelmedium auskommt. Die darin abgeschiedenen Partikel liegen somit in hoher Konzentration vor. Von Nachteil ist der Sammelstreß (vgl. Kapitel 3.10.6.), dem bereits abgeschiedene Viren bei dieser Betriebsart ausgesetzt werden.

- b) Das Sammelmedium passiert das Gerät "im Durchfluß", d.h. es wird nach seiner Entnahme aus einem Vorratsgefäß (24) und Durchlaufen des Sammlers in ein spezielles Sammelgefäß (23) abgegeben. Dieser Sammelmodus wirkt sich arbeitstechnisch insofern günstig aus, als die Zuleitung für das Sammelmedium während des ganzen Sammelvorgangs steril bleibt. Damit wird die Gefahr der Umgebungs-kontamination beim Abbau des Geräts nach dem Versuch deutlich vermindert. Nachteilig ist, daß abgeschiedene Viren in der großen, von der Sammelzeit abhängigen Menge Sammelmedium nur in relativ geringer Konzentration vorliegen.

Die Förderleistung der Schlauchpumpe läßt sich nur dadurch grob regulieren, daß man über den Wellen der Pumpe Schlauchstücke unterschiedlichen Kalibers einsetzt. Die jeweilige Förderleistung ist bei der Beschreibung der einzelnen Versuchsreihen angegeben.

Trommel und Lüfterrad des Aufsatzes wurden in allen Versuchen mit der gleichen maximalen Drehzahl von 2800 Umdrehungen/min gefahren, die bei längerem Betrieb aber stark abfiel. Aus diesem Grunde und weil der Motor seiner Bauart nach (Kondensator-Motor) ohnehin keine genaue Regelung zuläßt, wurde auf eine Drehzahlregelung verzichtet.

Um eine Verseuchung der Umgebung mit den Testviren zu verhindern, wurde die Abluft aus dem KSF 70 durch einen Sterilfilter geleitet. Der Widerstand, den dieser Filter darstellte, war jedoch so groß, daß der vom Gerät aus eigener Kraft bewirkte Luftdurchsatz auf Null absank. Er wurde wiederhergestellt durch Nachschalten einer Saugpumpe. Siehe dazu auch die Kapitel 3.8.1. und 3.8.2.

Im Anschluß an jeden Versuch wurde der KSF 70 mit Aqua dest. durchgespült, um eine Ablagerung von Salzen aus dem Sammelmedium sowie deren korrosive Wirkung weitgehend einzuschränken. Dazu wurde der Sammler 3 bis 5 min lang mit Aqua dest. anstelle von Sammelmedium "im Durchfluß" betrieben.

Der Sammleraufsatz wurde nach jedem Versuch auseinandergebaut und im Autoklaven sterilisiert. Von den mit virushaltiger Luft in Berührung kommenden Gehäuseteilen ist nur die Konsole auf dem Gehäusedach einer Behandlung mit Desinfektionsmitteln zugänglich.

3.1.1.4. Abbildungen

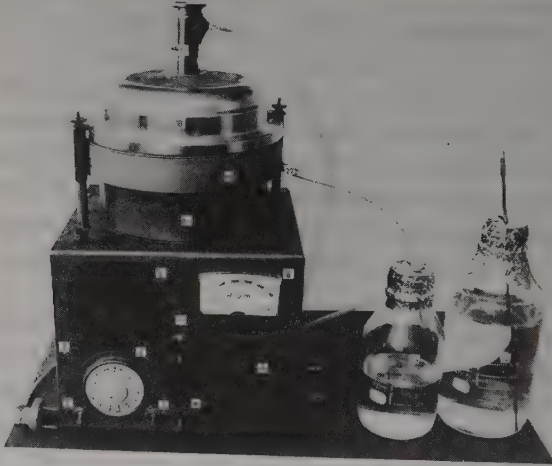


Abb. 1: Gesamtansicht des betriebsbereit aufgebauten
KSF 70 (Erklärung der Zahlen im Text)

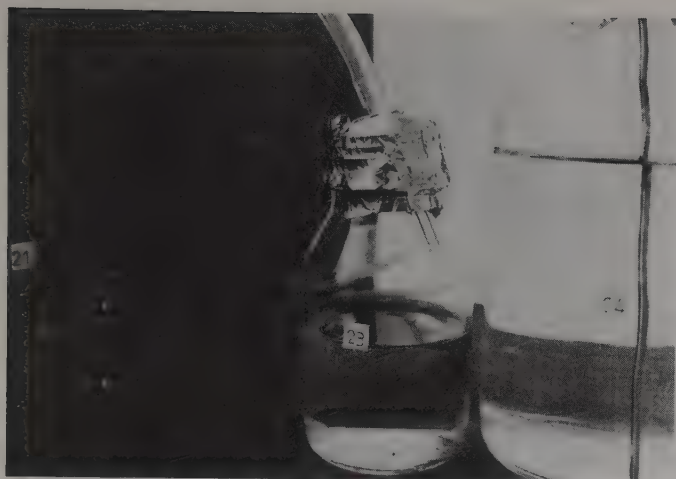


Abb. 2: Detailansicht von Schlauchpumpe und Sammelgefäßen (Erklärung der Zahlen im Text)

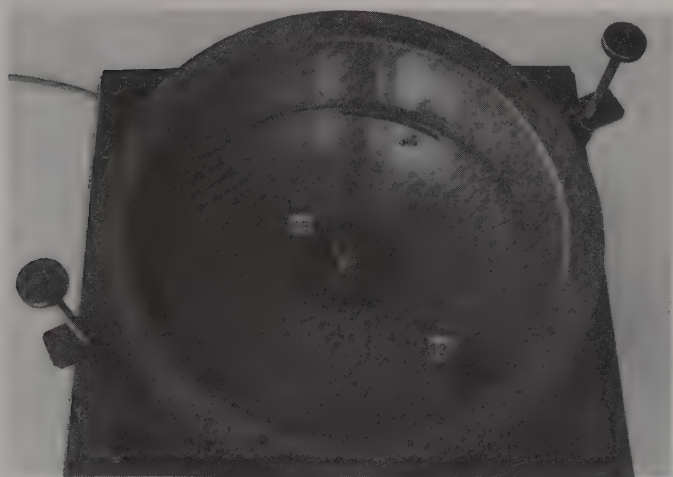


Abb. 3: Blick in die schalenartige Konsole auf dem Gehäusedach (Erklärung der Zahlen im Text)



Abb. 4: Konsole mit aufgesetztem Rahmenunterteil
(Erklärung der Zahlen im Text)

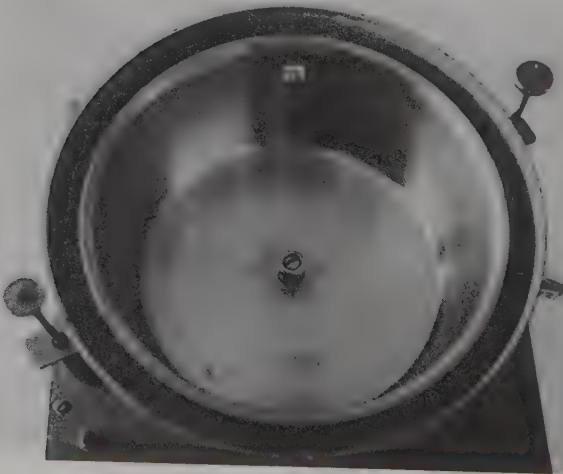


Abb. 5: Die Trommel ist eingesetzt
(Erklärung der Zahlen im Text)



Abb. 6: Das Rahmenoberteil ist aufgesetzt
(Erklärung der Zahlen im Text)

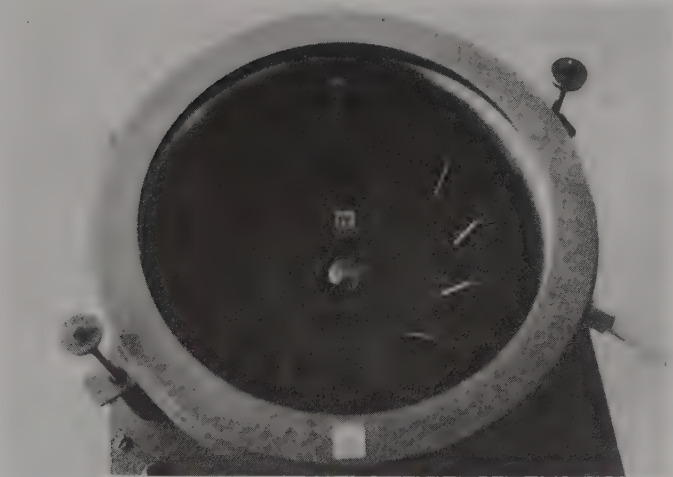


Abb. 7: Das Lüfterrad ist eingesetzt und festgeschraubt
(Erklärung der Zahlen im Text)



Abb. 8: Gesamtansicht des fertig zusammengebauten Sammleraufsatzes mit aufgesetztem Deckel
(Erklärung der Zahlen im Text)

3.1.2. Der All-Glass Impinger 30 (AGI 30)

Auf dem Internationalen Symposium Über Aerobiologie, das im Oktober 1963 im kalifornischen Berkeley (U.S.A.) abgehalten wurde, einigte man sich unter anderem auf die Empfehlung, daß alle mit einem speziellen Luftkeimsammler erzielten Sammelergebnisse in Bezug zu Ergebnissen gesetzt werden sollten, die unter ähnlichen Versuchsbedingungen mit einem standardisierten Referenzsammler gewonnen wurden. Nur so könnten andere, die sich mit der Aerobiologie befaßten, die gemachten Angaben richtig bewerten und bei eigenen Untersuchungen berücksichtigen. Als Referenzsammler wurden wegen ihrer Effektivität und weiten Verbreitung der AGI 30 und der Andersen-Sammler empfohlen (BRACHMAN et al., 1964).

Aus diesem Grunde wurden zu den meisten Versuchen mit dem KSF 70 Parallelversuche mit dem AGI 30 durchgeführt.

Der ganz aus Glas gefertigte AGI 30 stellt eine Weiterentwicklung des für das Sammeln von Staubpartikeln konzipierten Sammlers nach Greenburg und Smith (1922) und des Porton-Impingers nach Henderson und Woods (1942) dar (zitiert nach TYLER und SHIPE, 1959). Das etwa 25 cm große Gerät (Abb. 9), das im Prinzip eine Waschflasche darstellt, besteht aus 2 Teilen, die in einem Glasschliff zusammengefügt werden: dem Flaschenkörper, der das Sammelmedium enthält, und dem Stopfen mit Einlaßröhrchen und Absaugstutzen. An den Absaugstutzen wird zur Erzeugung des Luftdurchsatzes eine Saugpumpe angeschlossen. Das Einlaßröhrchen, das zunächst einen weiten Bogen von 90° beschreibt, verjüngt sich in seinem Endverlauf zu einer Kapillare, die genau 30 mm über dem Boden des Flaschenkörpers endet. Der Abstand von 30 mm erwies sich in den Sammelversuchen, die MAY und HARPER (1957) mit Bakteriënaerosolen durchführten, im Vergleich zu größeren oder kleineren Abständen als optimal für die Abscheidung lebender Zellen. Durch die kapillare Verengung des Einlaßröhrchens erfährt der Aerosolstrom vor seinem Eintritt ins Sammelmedium eine starke Beschleunigung bis auf nahezu Schallgeschwindigkeit.

Der AGI 30 wurde in allen Versuchen mit 60 ml Sammelmedium beschickt und mit einem Luftdurchsatz von 12 l/min betrieben.

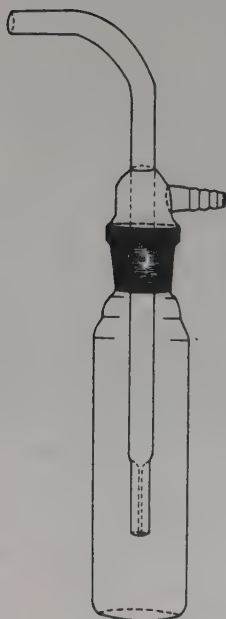


Abb. 9: AGI 30

3.2. Verwendete Testviren

Alle 4 in den Versuchen eingesetzten Virusarten wurden Institutsbeständen entnommen und hatten eine nicht bekannte Zahl von Zellkulturpassagen hinter sich. Sie wurden weniger deswegen ausgewählt, weil bei einem Teil von ihnen die aerogene Übertragung Bedeutung hat, sondern weil sie einerseits aufgrund ihrer geringen Virulenz ein risikoarmes Arbeiten gestatten und andererseits in ihrer Gesamtheit alle Aufbauprinzipien tier- und menschenpathogener Viren (behüllt - unbehüllt, RNS - DNS, Symmetrie kubisch - heli-

kal, komplexer Aufbau) verkörpern. Da nun die Stabilität von Viruspartikeln sowohl im luftgetragenen Zustand als auch beim Sammelvorgang von ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften bestimmt wird (vgl. Kapitel 2.4.), lassen sich die mit den Testviren gewonnenen Versuchsergebnisse im wesentlichen auf andere gleichermaßen aufgebaute Viren übertragen.

Bei den Testvirusarten handelt es sich um ECBO-Virus (Stamm LCR 4), IBR/IPV-Virus (Stamm "Bayferon"), Newcastle-Disease-Virus (Stamm Montana) und Vaccinia-Virus (Stamm Elstree). Eine Beschreibung der Viren wurde bereits in Kapitel 2.5. gegeben.

3.3. Zellkulturen

3.3.1. MDBK-Zellen (permanente Rinder-Nierenzellen)

Auf diesen Zellen erfolgten die Vermehrung und der Nachweis von IBR/IPV- und ECBO-Virus.

Anzüchtungsmedium: MEM¹⁾ mit: 10 % Kälberserum
1 % NEA²⁾
200 000 I.E. Penicillin G/l
260 mg Streptomycinsulfat/l

1) Minimum Essential Medium mit Earles Salzen (SERVA, Heidelberg)

2) Nicht-Essentielle Aminosäuren, 100 x (seromed^R, Biochrom KG, Berlin)

Erhaltungsmedium⁴⁾: MEM mit: 2 % Kälberserum

1 % NEA

Antibiotika wie im Anzüchtungs-
medium

Inkubation bei 37°C und einer 4,5 %igen CO₂-Atmosphäre.

3.3.2. VERO-Zellen (permanente Nierenzellen von Cercopithecus aethiops)

Auf diesen Zellen erfolgten die Vermehrung und der Nachweis
von Vaccinia-Virus.

Anzüchtungsmedium: MEM¹⁾ mit: 7 % Kälberserum

5 % Laktalbuminhydrolysat³⁾

200 000 I.E. Penicillin G/l

260 mg Streptomycinsulfat/l

Erhaltungsmedium⁴⁾: MEM mit: 2 % Kälberserum

5 % Laktalbuminhydrolysat

Antibiotika wie im Anzüchtungs-
medium

Inkubation bei 37°C und einer 4,5 %igen CO₂-Atmosphäre.

1) Minimum Essential Medium mit Earles Salzen (SERVA,
Heidelberg)

3) 5 %ig in Salzlösung nach Earle

4) Besonderheiten des Erhaltungsmediums für mit Virus
infizierte Zellen:
- Austausch von Kälberserum gegen foetales Kälber-
serum (nur bei letzterem kann die Anwesenheit von
gegen die Testviren gerichteten Antikörpern ausge-
schlossen werden)
- nur bei Virustitrierungen zusätzlich 77 mg Neo-
mycinsulfat und 500 µg Amphotericin B pro 1 Medium

3.3.3. HEF-Zellen (primäre Zellen, vgl. Kapitel 3.3.4.)

Auf diesen Zellen erfolgten die Vermehrung und der Nachweis von Newcastle-Disease-Virus.

Anzüchtungsmedium: MEM¹⁾ mit: 10 % Kälberserum
10 % Laktalbuminhydrolysat³⁾
200 000 I.E. Penicillin G/l
260 mg Streptomycinsulfat/l

Erhaltungsmedium⁴⁾: MEM mit: 1,5 % Kälberserum
10 % Laktalbuminhydrolysat
Antibiotika wie im Anzüchtungsmedium

Inkubation bei 37°C und einer 4,5 %igen CO₂-Atmosphäre.

3.3.4. Ansatz von Hühnerembryofibroblasten (HEF-Zellen)

Aus 10 Tage bebrüteten SPF-Hühnereiern (Valo-Eier; Fa. Lohmann, Cuxhaven) wurden die Embryonen steril entnommen. Nach Abtrennen von Kopf und Gliedmaßen sowie Entfernung der Eingeweide wurden sie in PBS gewaschen und zum Zwecke der Zerkleinerung durch eine Recordspritze gepreßt.

1) Minimum Essential Medium mit Earles Salzen (SERVA, Heidelberg)

3) 5 %ig in Salzlösung nach Earle

4) Besonderheiten des Erhaltungsmediums für mit Virus infizierte Zellen:
- Austausch von Kälberserum gegen foetales Kälberserum (nur bei letzterem kann die Anwesenheit von gegen die Testviren gerichteten Antikörpern ausgeschlossen werden)
- nur bei Virustitrierungen zusätzlich 77 mg Neomycinsulfat und 500 µg Amphotericin B pro 1 Medium

Der enzymatische Aufschluß der Gewebsfetzen erfolgte mit einer 0,25 %igen Lösung von Trypsin in PBS bei 37°C. Nach 5minütiger Vortrypsinierung und Verwerfen des Überstandes wurde 30 min lang trypsiniert.

Die erhaltene Suspension von Zellen und Gewebeteilen wurde durch ein 6-8faches Mullfilter gegossen, und das Filtrat 10 min bei 300 g zentrifugiert. Nun folgte ein Waschvorgang, wobei das Sediment in PBS aufgenommen und erneut zentrifugiert wurde. Die resuspendierten Zellen wurden in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ausgezählt und in Anzuchtmedium auf eine Dichte von 10^5 - 10^6 Zellen pro ml eingestellt. Schließlich erfolgte die Abfüllung in die Kulturgefäße.

3.4. Virustitrierung

Zur Ermittlung des Gehalts an infektiösem Virus in Vernebelungssuspensionen und Sammelproben wurden 2 verschiedene Verfahren der Virustitrierung in Zellkulturen eingesetzt. Die meisten Versuchsreihen wurden nach der Methode der Endpunktbestimmung ausgewertet, einige wenige (Bestimmung der Nachweisgrenze für Virusaerosole, Bestimmung physikalischer Aerosolverluste) mittels des Plaquetests. Alle Proben wurden bis zur Titrierung bei -80°C tiefgefroren gelagert.

3.4.1. Virustitrierung mit Endpunktbestimmung

Hierzu fanden Zellkulturplatten mit 24 Vertiefungen (Fa. Nunc GmbH, Kopenhagen) Verwendung. Von den Proben wurden Verdünnungsreihen mit Faktor 10 in PBS angelegt. Pro Verdünnungsstufe wurden auf den konfluenten, mit PBS gewaschenen Zellrasen von 4 Vertiefungen je 0,1 ml aufge-

impft. Erhaltungsmedium wurde nach halbstündiger Inkubation im Brutschrank (Adsorptionsphase) aufgefüllt.

Je nach Virus- und Zellart erfolgte die Untersuchung der Zellkulturplatten auf cytopathische Effekte nach unterschiedlichen Zeitspannen:

ECBO-Virus:	nach 3 Tagen
IBR/IPV-Virus:	nach 3 Tagen
ND-Virus:	nach 4 Tagen
Vaccinia-Virus:	nach 5 Tagen

Als Ergebnis der Virustitrierung wurde mit der Methode nach SPEARMAN und KAERBER (zitiert nach BONIN, 1973) der Virusgehalt der Proben als KID_{50}/ml (Kultur-Infektiöse Dosis 50 %/ml) bestimmt. Der Virustiter wurde in $\log_{10} KID_{50}/ml$ angegeben.

3.4.2. Virustitrierung im Plaquetest

Für den Plaquetest wurden Zellkulturschalen von 100 mm Durchmesser (Fa. Nunc GmbH, Kopenhagen) verwendet. Von den Proben wurden Verdünnungsreihen mit Faktor 10 in PBS angelegt. Pro Verdünnungsstufe wurden auf den konfluenten Zellrasen von 3 Schalen je 0,5 ml aufgebracht. Nach einstündiger Inkubation im Brutschrank (Adsorptionsphase) erfolgte die Über-schichtung mit dem für die Zellart spezifischen Erhaltungs-medium, welches zusätzlich 1,4 % Agar (Bacto-Agar; Difco Laboratories, Detroit, Mich., U.S.A.) enthielt (1. overlay).

Die weitere Inkubationsdauer bis zum Auszählen der Plaques entsprach der im vorstehenden Kapitel (Virustitrierung mit Endpunktbestimmung) angegebenen. Einen Tag vor dem Auszählen der Plaques wurden die Kulturen mit Neutralrot gefärbt. Dazu wurde auf das 1. overlay eine zweite Schicht aufgetragen (2. overlay), bestehend aus 0,03 % Neutralrot und

1,4 % Bacto-Agar in PBS (ohne Calcium und Magnesium). Auf diese Weise färbten sich alle lebenden Zellen rot an, während die durch Virus zerstörten Bereiche des Zellrasens als ungefärbte Plaques erschienen.

Der Virustiter wurde nach ROLLE und MAYR (1984) errechnet als arithmetisches Mittel der Plaquezahlen der höchsten Verdünnungsstufe, bei der noch alle 3 Parallelen Plaques aufwiesen und in PBE/ml (Plaquebildenden Einheiten/ml) angegeben.

3.5. Quantitativer Sporennachweis

Die bakteriologische Auswertung der Versuche, in denen den Virus-Vernebelungssuspensionen Sporen von *B. subtilis* var. niger als Marker für die physikalische Aerosolabmangelung zugesetzt wurden (vgl. Kapitel 3.10.9.) erfolgte im Oberflächenverfahren.

Von den Proben wurden Verdünnungsreihen mit Faktor 10 in physiologischer Kochsalzlösung angelegt. Pro Verdünnungsstufe wurden auf 3 Standard-I-Nährböden (Fa. Merck, Darmstadt) je 0,1 ml ausgestrichen.

Nach 16 - 24 Stunden Bebrütung bei 37°C wurden die Bakterienkolonien der höchsten Verdünnungsstufe, bei der noch alle 3 Nährböden bewachsen waren, ausgezählt. Der Sporengehalt der Probe wurde als arithmetisches Mittel aus den Koloniezahlen der 3 Parallelen errechnet und in Koloniebildenden Einheiten (KBE) pro ml angegeben.

Vorversuche ergaben, daß die in den Virussuspensionen enthaltenen Antibiotika (200 000 I.E. Penicillin G und 260 mg Streptomycinsulfat) den quantitativen Nachweis der Sporen nicht beeinträchtigten. In den Sammelproben war kein Hemm-

effekt nachweisbar, bei der Bestimmung des Sporengehaltes der Vernebelungssuspensionen war ab der Verdünnungsstufe 10^{-2} keine Hemmstoffwirkung mehr erkennbar.

3.6. Gewinnung von Virus- und Sporensuspensionen für die Aerosolerzeugung

3.6.1. Virussuspensionen

Die Herstellung von Virussuspensionen erfolgte bei allen Testviren im Prinzip gleich.

Auf den konfluenten Zellrasen in einer Zellkulturflasche ($175 \text{ cm}^2/800 \text{ ml}$; Fa. Nunc GmbH, Kopenhagen) wurden nach Waschen mit PBS einige Milliliter Virussuspension aufgetragen. Die so infizierte Zellkultur wurde für eine halbe Stunde in den Brutschrank verbracht, um die Adsorption der Viren an die Wirtszellen zu fördern. Danach wurden etwa 100 ml des für die jeweilige Zellart spezifischen Erhaltungsmediums aufgefüllt.

Abhängig von der Menge (i.a. 5 - 10 ml) und dem Virusgehalt (i.a. 10^5 - $10^7 \text{ KID}_{50}/\text{ml}$) des Inokulums sowie von der Virusart mußte die Kultur 1 - 4 Tage weiter bebrütet werden, bis praktisch alle Zellen cytopathische Effekte zeigten. Nun wurde die Kulturflasche zur Zerstörung aller noch nicht lysierten Zellen - und damit zur Freisetzung der in diesen gebildeten Viruspartikel - bei -20°C eingefroren. Nach dem Auftauen wurden die Zelltrümmer durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 2500 g abgetrennt. Der virushaltige Zellkulturüberstand wurde portioniert und bei -80°C tiefgefroren.

3.6.2. Sporensuspension

Zur Ermittlung der prozentualen Überlebensrate von luftgetragennem IBR/IPV-Virus wurden der Vernebelungssuspension Sporen von *B. subtilis* var. *niger* als Marker für die physikalische Aerosolabmangelung zugesetzt (vgl. Kapitel 3.10.9.).

Die Züchtung der Sporen erfolgte nach Anlage 4 der AB. A zum Fleischbeschaugesetz (SPINDLER et al., 1980). Demnach fanden Nährböden der folgenden Zusammensetzung Verwendung:

- Fleischpepton	3,45 g
(durch tryptische Verdauung gewonnen)	
- Caseinpepton	3,45 g
(durch tryptische Verdauung gewonnen)	
- NaCl	5,1 g
- Agar	13,0 g
- Aqua dest.	ad 1000 ml

Beim Auflösen des Trockennährbodens wurden noch 0,1 % KH_2PO_4 zugesetzt und der pH-Wert auf $7,0 \pm 0,2$ eingestellt.

Die Nährböden wurden nach massiver Ösenbeimpfung 10 Tage bei 30°C bebrütet. Die danach zum größten Teil versporteten Keime wurden mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und 10 min bei 2500 g abzentrifugiert. Nun folgte ein Waschvorgang mit Resuspendierung in physiologischer Kochsalzlösung und erneuter Zentrifugation. Das Sediment wurde wiederum in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und zur Abtötung der vegetativen Zellen 30 min lang bei 70°C erhitzt. Die so gewonnene Sporensuspension wurde bei 4°C gelagert.

3.7. Aerosolerzeugung

Für die Erzeugung der Virusaerosole wurde ein nach dem Prinzip des Collison-Verneblers (MAY, 1973) funktionierender Aerosolgenerator verwendet. Die folgende Beschreibung des Geräts bezieht sich auf Abb. 10.

Von einer Pumpe erzeugte Druckluft wird in ein am unteren Ende verschlossenes Aluminiumrohr (2) gepreßt und strömt mit hoher Geschwindigkeit durch die Bohrungen (5). Direkt unterhalb der Bohrungen entsteht so ein relativer Unterdruck, der dazu führt, daß die im Glaskolben (1) befindliche Virussuspension in den Kapillarröhrchen (6) aufsteigt und beim Austritt aus denselben zu feinen Tröpfchen vernebelt wird. Der Aerosolstrahl ist gegen die Wandung des Glaskolbens gerichtet, wo sich die größeren Aerosoltröpfchen abscheiden und zurückfließen. Nur die kleinen Tröpfchen verlassen den Glaskolben.

Das Größenspektrum¹⁾ der von dieser Verneblerart erzeugten nativen Aerosoltröpfchen weist ein deutliches Maximum bei etwa 3,5 μm auf, was einer mittleren Größe der Restkerne von 0,8 - 1 μm entspricht. Damit könnte der größte Teil der erzeugten Aerosolpartikel bei Einatmung bis in die Lungenalveolen vordringen, wo mit einer Retention der Partikel von 20 - 60 % zu rechnen wäre (HATCH, 1961).

Die Füllmenge des Aerosolgenerators betrug bei allen Versuchen zwischen 30 und 40 ml Virussuspension. Aus einer Füllung heraus wurde höchstens 2mal vernebelt. Die

1) Die Bestimmung des Größenspektrums wurde von Herrn Dipl.-Phys. U. Theilen im Institut für Tierhygiene der Universität Hohenheim durchgeführt

mechanische Belastung der suspendierten Viruspartikel während der Vernebelungsaktion führte in keinem Fall zu einem Abfall des Virustiters in der Vernebelungssuspension.

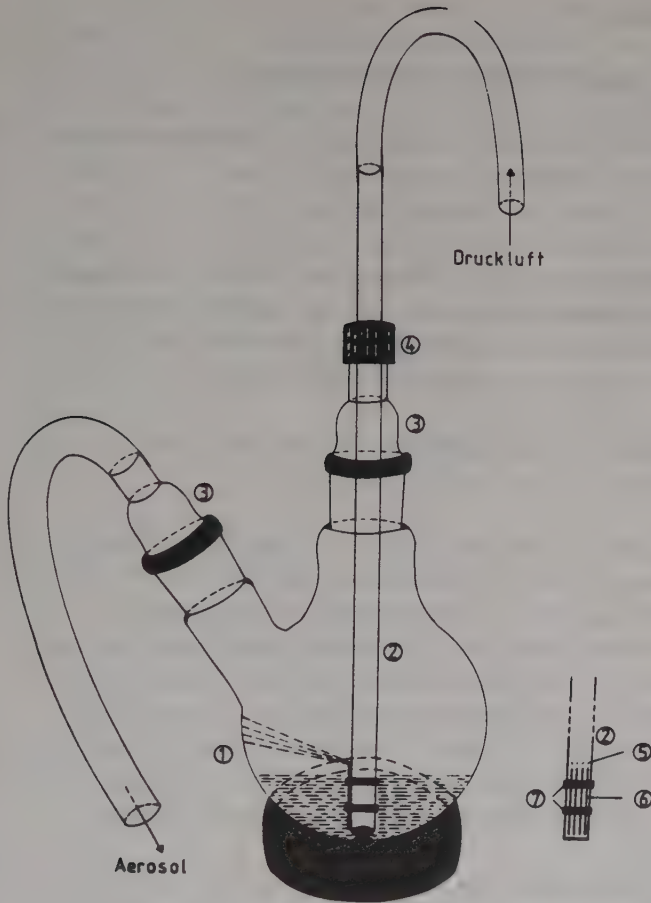


Abb. 10: Aerosolgenerator

- 1 Zweihalskolben mit Vernebelungssuspension
- 2 Verneblerstab aus Aluminium (8 mm $\varnothing$)
- 3 Glasschliffverbindungen
- 4 Dichtung zwischen Kernschliff und Verneblerstab
- 5 Bohrungen (0,7 mm $\varnothing$)
- 6 Kapillarröhrchen aus V2A-Stahl (1,2 mm $\varnothing$)
- 7 Haltegummiringe für Kapillarröhrchen

3.8. Versuchsaufbau

3.8.1. Kleine Aerosolkammer (Versuchsaufbau I)

Im folgenden wird eine kurze funktionelle Beschreibung des Versuchsaufbaus I gegeben. Dabei wird auf Abb. 11 Bezug genommen.

Als Aerosolkammer dient ein PVC-Faß von etwa 60 l Rauminhalt. An dieser Kammer befinden sich mehrere Öffnungen für Schlauchanschlüsse, über die Luft bzw. Aerosole in sie einströmen oder aus ihr abgesaugt werden können.

Das im Vernebler erzeugte Aerosol strömt über eine Schlauchleitung von oben in die Aerosolkammer ein.

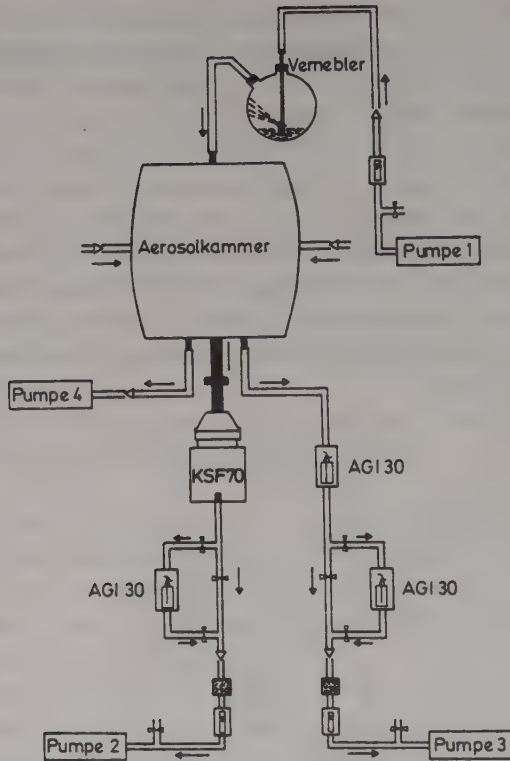
Im Boden der Kammer befinden sich 3 Schlauchanschlüsse. Zwei davon dienen als Ansaugöffnungen für den KSF 70 und den AGI 30. An den dritten wird eine starke Saugpumpe (Pumpe 4) angeschlossen. Mit ihr werden nach jedem Versuch noch in der Kammer verbliebene Aerosolreste abgesaugt (5 min lang bei einer Saugleistung von 150 l/min). Vor jedem neuen Versuch wird die Virusfreiheit des Systems durch einen 2-3 minütigen Kontrollversuch mit dem KSF 70 unter den jeweiligen Versuchsbedingungen nachgewiesen.

Der Luftdurchsatz durch die beiden Keimsammler wird mit Hilfe zweier Saugpumpen (Pumpe 2 und Pumpe 3) hergestellt (Rotametermessung). Die genaue Einstellung erfolgt jeweils über einen By-Pass.

Wird Luft oder Aerosol aus der Kammer abgesaugt, so strömt zum Druckausgleich durch 2 mit Sterilfiltern gesicherte Öffnungen in der seitlichen Kammerwandung Raumluft in die Kammer nach. Auf diese Weise wird das Testaerosol während des Sammlerbetriebs laufend verdünnt.

Nur bei der Prüfung auf Sekundäraerosolbildung und Durchreißeffekt wird den beiden Sammlern jeweils ein AGI 30 nachgeschaltet. Wie aus Abb. 11 ersichtlich, ist dies leicht durch Schließen bzw. Öffnen einiger Schlauchklemmen zu bewerkstelligen. ~

Zum Schutz der den Sammlern nachgeschalteten Rotameter und Pumpen vor Korrosion wird die Abluft aus den Sammlern zunächst zur Feuchtigkeitsabsorption durch Silikagel geleitet. Alle Öffnungen, über die das Versuchssystem mit der Umgebung in Verbindung steht, sind mit Sterilfiltern (Munktell Sterilfilter MS 61, Fa. Cryo-Technik GmbH, Hamburg) gesichert.



- : Richtung des Luft-bzw. Aerosolstroms ∇ : Schlauchklemme
 Δ : Sterilfilter
 : Feuchtigkeitsabsorber (Silikagel)
 : Rotameter
 : Bypass

Nähere Erläuterungen im Text.

Abb. 11: Versuchsaufbau I

3.8.2. Große Aerosolkammer (Versuchsaufbau II)

Im folgenden wird eine kurze funktionelle Beschreibung des Versuchsaufbaus II gegeben. Dabei wird auf Abb. 12 Bezug genommen.

Die Aerosolkammer stellt ein annähernd quaderförmiges Gebilde aus rostfreiem Stahl dar. Sie besitzt einen Rauminhalt von etwa $1,1 \text{ m}^3$. An der Frontseite ist die Kammer im oberen Drittel abgeschrägt. Hier befindet sich eine mit einer Plexiglasscheibe versehene Klappe, über die man Zugriff ins Kammerinnere hat. In der Decke, im Boden und in einer Seitenwand der Kammer liegen mit Flanschanschlüssen armierte Öffnungen. Über diese Öffnungen können Luft bzw. Aerosole in die Kammer einströmen oder aus ihr abgesaugt werden. Das im Vernebler erzeugte Aerosol strömt über eine Schlauchleitung von oben in die Aerosolkammer ein.

Zwei etwa in der Mitte der einen seitlichen Kammerwand gelegene Öffnungen dienen als Ansaugöffnungen für den KSF 70 und den AGI 30. Der Luftdurchsatz durch die beiden Keimsammler wird mit Hilfe zweier Saugpumpen (Pumpe 2 und Pumpe 3) hergestellt (Rotametermessung). Die genaue Einstellung erfolgt jeweils über einen By-Pass.

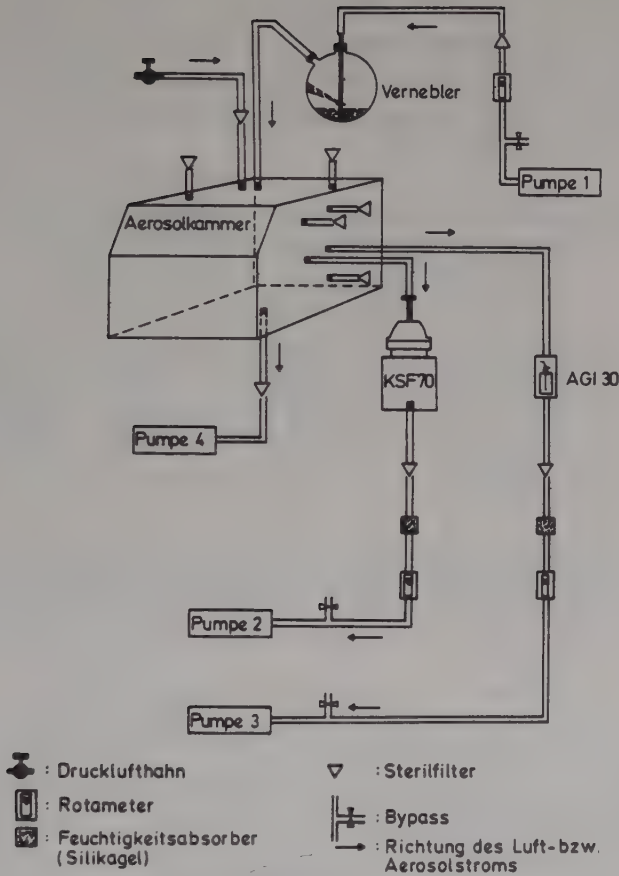
Nach jedem Versuch werden noch in der Kammer verbliebene Aerosolreste aus dieser ausgespült. Dazu wird einerseits Druckluft durch eine im Dach der Kammer befindliche Öffnung geleitet, andererseits wird über die Öffnung im Kammerboden mittels einer starken Saugpumpe (Pumpe 4) Luft aus der Kammer abgesaugt. Druckluft und Saugleistung der Pumpe (150 l/min) sind so aufeinander abgestimmt, daß während des 20minütigen Spülvorgangs in der Kammer ein geringer Unterdruck herrscht.

Vor jedem neuen Versuch wird die Virusfreiheit des Systems durch einen 2-3minütigen Kontrollversuch mit dem KSF 70 unter den jeweiligen Versuchsbedingungen nachgewiesen.

Wird Luft oder Aerosol aus der Kammer abgesaugt, so strömt zum Druckausgleich über einige mit Sterilfiltern gesicherte Kammeröffnungen Raumluft in die Kammer nach. Auf diese Weise wird das Testaerosol während des Sammlerbetriebs laufend verdünnt.

Zum Schutz der den Sammlern nachgeschalteten Rotameter und Pumpen vor Korrosion wird die Abluft aus den Sammlern zunächst zur Feuchtigkeitsabsorption durch Silikagel geleitet.

Alle Öffnungen, über die das Versuchssystem mit der Umgebung in Verbindung steht, sind mit Sterilfiltern (Munk-tell Sterilfilter MS 61, Fa. Cryo-Technik GmbH, Hamburg) gesichert.



Nähere Erläuterungen im Text.

Abb. 12: Versuchsaufbau II

3.9. Sammelmedium

Als Grundlage für alle Sammelmedien diene die auch zum Anlegen der Verdünnungsreihen bei den Virustitrierungen verwendete PBS-Lösung (Phosphate-Buffered Saline) nach DULBECCO und VOGT (1954).

Die phosphatgepufferte Salzlösung hat folgende Zusammensetzung:

Lösung 1:

NaCl	80 000 mg
KCl	2 000 mg
CaCl ₂	1 000 mg
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	1 000 mg
Aqua bidest. ad	1 000 ml

Lösung 2:

Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	28 980 mg
KH ₂ PO ₄	2 000 mg
Aqua bidest. ad	1 000 ml

Die gebrauchsfertige Lösung (1 l) entsteht aus 100 ml Lösung 1, 100 ml Lösung 2 und 800 ml Aqua bidest. und hat einen pH von 7,4.

Als Grundmedium wurde in allen Versuchen PBS mit einem Zusatz von Antibiotika (200.000 I.E. Penicillin G, 260 mg Streptomycinsulfat und 77 mg Neomycinsulfat pro l) eingesetzt. Wegen der starken Schaumentwicklung im Grundmedium beim Betrieb des AGI 30 erwies sich der Zusatz von 0,05 bzw. 0,07 % SRE Antischaumemulsion (Wacker Chemie GmbH, München) bei den meisten Versuchen als notwendig.

Vorversuche ergaben, daß SRE in den genannten Konzentrationen auf im Grundmedium suspendiertes ECBO- und Vaccinia-Virus keine viruzide Wirkung ausübt. Für IBR/IPV- und ND-Virus gilt dies nur dann, wenn das Grundmedium weitere Zusätze wie bovines Serumalbumin, Kälberserum, Pferdeserum, Pepton oder Glycerin enthält.

Art und Konzentration der Stoffe, die dem Grundmedium zur Verbesserung der Virusabscheidung zugesetzt wurden, sind bei der Besprechung der einzelnen Versuchsreihen aufgeführt.

3.10. Versuchsreihen

3.10.1. Vorversuche: Untersuchungen zum Einfluß des Sammelmodus auf das Sammelergebnis

Zweck dieser Versuchsreihe war es grundsätzlich festzustellen, ob der KSF 70 für eine Abscheidung von Viren aus dem luftgetragenen Zustand geeignet ist. Gleichzeitig wurde untersucht, inwieweit der Sammelmodus ("im Kreislauf" oder "im Durchfluß") einen Einfluß auf das Sammelergebnis hat.

Sämtliche Versuche wurden an der kleinen Aerosolkammer bei Raumtemperaturen zwischen 20 und 26°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 37 und 63°C durchgeführt.

Versuchsdurchführung:

Der Aerosolgenerator wurde 5,5 min lang mit einem Druck von 1 bar betrieben, entsprechend einem Luftdurchsatz von 10 - 12 l/min. Während dieser Zeit wurden durchschnittlich 1,6 ml Virussuspension vernebelt.

Mit dem KSF 70 wurde 4,5 min lang bei einem Luftdurchsatz von 15 l/min gesammelt. Als Sammelmedium diente Grundmedium in einer Menge von 100 ml (Sammelmodus "im Kreislauf") bzw. durchschnittlich 320 ml (Sammelmodus "im Durchfluß"). Die Schlauchpumpenförderleistung betrug ca. 1,2 ml/sec.

Der Sammler wurde 1 min nach dem Aerosolgenerator eingeschaltet.

3.10.2. Untersuchungen zum Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren

In dieser Versuchsreihe wurde untersucht, ob das Sammelergebnis mit dem KSF 70 durch Zusatz verschiedener Schutzsubstanzen zur Vernebelungssuspension verbessert werden kann.

Als Schutzsubstanzen wurden den Virussuspensionen 20 % Pferdeserum¹⁾, 0,4 % Bentonit oder 1 % Inosit zugesetzt. Als Sammelmedium diente Grundmedium. Sämtliche Versuche wurden an der kleinen Aerosolkammer bei Raumtemperaturen zwischen 20 und 25°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 36 - 61 % durchgeführt.

Versuchsdurchführung:

Der Aerosolgenerator wurde 8 min lang mit einem Druck von 1 bar betrieben, entsprechend einem Luftdurchsatz von 10 - 12 l/min. Während dieser Zeit wurden durchschnittlich 2,5 ml Virussuspension vernebelt.

Mit dem KSF 70 wurde 13 min lang "im Durchfluß" gesammelt. Der Luftdurchsatz lag bei 15 l/min. Bei einer Schlauchpumpenförderleistung von ca. 0,9 ml/sec betrug die in dieser Zeit durchgesetzte Menge an Grundmedium 700 ml.

Sammler und Aerosolgenerator wurden gleichzeitig eingeschaltet.

¹⁾ 1/2 Stunde bei 56°C inaktiviert

Abweichend¹⁾ hiervon wurde bei zum Vergleich ohne Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension durchgeführten Versuchen nur 12,5 min lang gesammelt. Die Schlauchpumpenförderleistung betrug ca. 1,2 ml/sec, die Menge an Sammelmedium 900 ml.

3.10.3. Untersuchungen zum Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute

Zweck der im folgenden beschriebenen Versuche war es, unterschiedlich zusammengesetzte Sammelmedien hinsichtlich ihrer Effektivität bei der Abscheidung luftgetragener Viren zu überprüfen.

Sammelmedien:

Als Grundmedium für alle Sammelversuche diente PBS mit Antibiotikazusatz (vgl. Kapitel 3.9.). Dieses Grundmedium wurde durch Zusatz verschiedener Stoffe abgewandelt. Grundlage für die Auswahl der Zusatzstoffe bildeten Sammelergebnisse, die RIEF-BRENNER (1986) bei Versuchen mit dem Spezial-Impinger gewonnen hatte. Für die einzelnen Virusarten wurden folgende Zusätze verwendet:

ECBO-Virus:	30 % MEM	}	+ 0,05 % SRE
	4,35 % Glycerin		
IBR/IPV-Virus:	4 % Kälberserum	}	+ 0,05 % SRE
	4 % Pferdeserum		
	0,25 % bovines Serumalbumin		+ 0,07 % SRE

¹⁾ Die Abweichungen in den Versuchsbedingungen werden als unbedeutend erachtet und die Ergebnisse somit als vergleichbar angesehen

ND-Virus:	4,35 % Glycerin	}	+ 0,05 % SRE
	4 % Pferdeserum		
	0,2 % Pepton		
	0,25 % bovines Serum- albumin		+ 0,07 % SRE
Vaccinia-Virus:	30 % MEM	}	+ 0,05 % SRE
	4 % Kälberserum		
	4 % Pferdeserum		

Pferde- und Kälberserum wurden nur nach halbstündiger Hitzeinaktivierung bei 56°C verwendet.

Sämtliche Versuche wurden an der kleinen Aerosolkammer bei Raumtemperaturen von 21 - 23°C und 20 - 30 % relativer Luftfeuchtigkeit durchgeführt.

Versuchsdurchführung:

Der Aerosolgenerator wurde 3 min lang mit einem Druck von 0,5 bar betrieben, entsprechend einem Luftdurchsatz von 8 l/min. In dieser Zeit wurden durchschnittlich 0,7 ml Virussuspension vernebelt.

Sowohl mit dem KSF 70 als auch mit dem AGI 30 wurde 5 min lang bei einem Luftdurchsatz von 12 l/min gesammelt. Für den KSF 70 wurde der Sammelmodus "im Durchfluß" gewählt (ca. 208 ml Sammelmedium in 5 min). Der AGI 30 wurde mit 60 ml Sammelmedium gefüllt.

Sammler und Aerosolgenerator wurden gleichzeitig eingeschaltet. Die beiden Keimsammler wurden nicht gleichzeitig, sondern nacheinander eingesetzt, und zwar aus folgendem Grund:

Die Luftansaugöffnungen des KSF 70 und des AGI 30 haben sehr unterschiedliche Durchmesser. Bei gleichem Luftdurchsatz erreicht die angesaugte Luft bei dem Sammler mit kleinerer Ansaugöffnung (AGI 30) eine höhere Geschwindigkeit als bei dem Sammler mit größerer Ansaugöffnung (KSF 70). Liegen nun beide Ansaugöffnungen nahe beieinander (wie in dem verwendeten Versuchsaufbau), so werden bei gleichzeitigem Betrieb der Sammler luftgetragene Partikel in unverhältnismäßig starkem Maße mit dem schnelleren Luftstrom mitgerissen. Auf diese Weise wird das Sammelergebnis verfälscht. Daher gliederte sich jeder Versuch in 2 Teilversuche:

I. Vernebeln und Sammeln mit dem KSF 70

II. Vernebeln und Sammeln mit dem AGI 30

Zwischen den Teilversuchen wurden sämtliche Aerosolreste aus der Kammer abgesaugt.

3.10.4. Kombiniertes Einsatz von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammelausbeute

Die Aerosolsammelversuche dieser Versuchsreihe wurden vor allem deswegen durchgeführt, um die beiden Keimsammler bezüglich Sekundäraerosolbildung (vgl. Kapitel 3.10.5.) und Sammelstreß (vgl. Kapitel 3.10.6.2.) zu untersuchen.

Die Auswahl der Schutzsubstanzen in den Vernebelungssuspensionen und der Sammelmedien erfolgte in Anlehnung an die Ergebnisse der Kapitel 4.2. und 4.3.:

Virus	Schutzsubstanz	Sammelmedium
ECBO	keine	Grundmedium mit 0,05 % SRE
IBR/IPV	20 % Pferdeserum ¹⁾	} Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE
ND	20 % Pferdeserum ¹⁾	
Vaccinia	20 % Pferdeserum ¹⁾	
		Grundmedium mit 4 % Kälberserum ¹⁾ und 0,05 % SRE

Da die Versuchsdurchführung genau der in Kapitel 3.10.3. beschriebenen entsprach, kann durch Vergleich der Ergebnisse festgestellt werden, ob bei zusätzlicher Verwendung einer Schutzsubstanz in der Vernebelungssuspension höhere Sammelergebnisse zu erzielen sind, als mit dem entsprechenden Sammelmedium allein.

Während der Versuche lag die Raumtemperatur bei 21 - 22°C und die relative Luftfeuchtigkeit bei 20 - 28 %.

3.10.5. Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung

Unter dem Durchreißeffekt versteht man die Erscheinung, daß ein Keimsammler aus der einströmenden Luft nicht sämtliche luftgetragenen Partikel sammeln kann. Ein mehr oder weniger großer Teil entgeht dem Abscheidemechanismus - reißt durch - und verläßt den Sammler wieder mit der Abluft.

Von Sekundäraerosolbildung spricht man, wenn beim Betrieb des Sammlers aus dem Sammelmedium sekundär Aerosole entstehen. Mit diesen Sekundäraerosolen können auch im Sammelmedium bereits abgeschiedene (infektiöse) Partikel den Sammler wieder verlassen.

¹⁾ 1/2 Stunde bei 56°C inaktiviert

Zum experimentellen Nachweis von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung wurde den beiden Keimsammlern KSF 70 und AGI 30 jeweils ein AGI 30 nachgeschaltet. Dieser wurde mit 60 ml desselben Sammelmediums beschickt wie die vorstehenden Sammler.

Zwei Versuchsreihen wurden durchgeführt:

In der einen wurde der KSF 70 nur auf den Durchreißeffekt geprüft. Die Versuche wurden im Rahmen der Erprobung verschiedener Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension durchgeführt (vgl. Kapitel 3.10.2.). Da der Sammler "im Durchfluß" betrieben wurde, konnte die Bildung infektiöser Sekundäraerosole ausgeschlossen werden. Die Raumtemperaturen lagen bei 20 - 25°C, die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 36 und 61 %.

In der zweiten Versuchsreihe wurden der KSF 70 und der AGI 30 nur auf Sekundäraerosolbildung untersucht. Erst nach Abschluß des Sammelvorgangs (vgl. Kapitel 3.10.4.) wurde den Sammlern ein AGI 30 nachgeschaltet. Daraufhin wurden sie weitere 30 min unter Zufuhr sterilgefilterter Luft betrieben, der KSF 70 diesmal jedoch "im Kreislauf". Während der Versuche lagen die Raumtemperaturen bei 21 - 22°C, die relative Luftfeuchtigkeit bei 20 - 28 %.

Die nach 30 min aus dem nachgeschalteten AGI 30 gezogenen Proben wurden einerseits titriert, andererseits wurde ein qualitativer Virusnachweis durchgeführt: Das gesamte Probenvolumen (5 ml) wurde auf einen konfluenten Zellrasen (25 cm² in 50-ml-Zellkulturflasche) aufgebracht. Nach einstündiger Adsorption bei 37°C wurde die Probe dekantiert und Erhaltungsmedium aufgefüllt. Je nach Virusart wurde nach 3 - 5 Tagen auf cytopathische Effekte untersucht.

3.10.6. Untersuchungen zum Sammelstreß

Unter dem Begriff Sammelstreß ist die Gesamtheit der Einflüsse zu verstehen, denen ins Sammelmedium abgeschiedene infektiöse Partikel beim weiteren Betrieb des Sammlers ausgesetzt sind. Starke Belüftung des Sammelmediums, Wärmeeinwirkung (Umgebungstemperatur, Wärmeentwicklung des Sammlermotors) und ein nicht optimal stabilisierendes Sammelmedium können zur Inaktivierung abgeschiedener Viren führen. Auch Adsorption an innere Oberflächen des Sammlers und Sekundäraerosolbildung sind als Ursachen für einen Abfall des Virustiters im Sammelmedium denkbar.

3.10.6.1. Sammelstreß im KSF 70 auf Virus, das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat

Sammelmedium:

Aus Zellkulturüberständen gewonnene Virussuspensionen wurden mit Grundmedium 1:10 verdünnt. Diesem Sammelmedium wurden in einigen Versuchen noch 0,05 % bzw. 0,07 % SRE Antischaumemulsion und 0,25 % bovines Serumalbumin zugesetzt.

Versuchsdurchführung:

Der KSF 70 wurde 30 min lang "im Kreislauf" betrieben. Der Luftdurchsatz betrug 12 l/min. Die angesaugte Luft war sterilgefiltert. Die theoretische Umlaufzahl für die pro Versuch eingesetzten 200 ml Sammelmedium errechnet sich mit 6,2 bei einer Förderleistung der Schlauchpumpe von ca. 41,6 ml/min.

Probennahme:

Der Ausgangstiter des Sammelmediums wurde stets aus einer Probe bestimmt, die vor einem eventuellen Zusatz von SRE Antischaumemulsion und bovinem Serumalbumin gezogen wurde. Während der Versuche wurden Proben zu folgenden Zeitpunkten gezogen: 0 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min und 30 min.

Die sich aus der Probennahme (jeweils 2 ml) ergebende Verminderung des Volumens an Sammelmedium und die daraus resultierende geringgradige Erhöhung der theoretischen Umlaufzahl wurden als unbedeutend angesehen.

Alle Versuche wurden bei Raumtemperaturen von 21 - 24°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 20 und 30 % durchgeführt.

3.10.6.2. Sammelstreß im KSF 70 und AGI 30 auf Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist

Die Untersuchungen wurden direkt im Anschluß an die in Kapitel 3.10.4. beschriebenen Aerosolsammelversuche mit den dort erhaltenen Mengen virushaltigen Sammelmediums (KSF 70: durchschnittlich 208 ml; AGI 30: 66 ml) durchgeführt.

Versuchsdurchführung:

KSF 70 und AGI 30 wurden 30 min lang mit einem Luftdurchsatz von 12 l/min betrieben, wobei sterilgefilterte Luft angesaugt wurde. Der Sammelmodus für den KSF 70 war "im Kreislauf". Die theoretische Umlaufzahl für die durch den

KSF 70 zirkulierenden 208 ml Sammelmedium errechnet sich mit 6,0 bei einer Förderleistung der Schlauchpumpe von ca. 41,6 ml/min.

Probennahme:

Zu folgenden Zeitpunkten wurden Proben gezogen: 0 min (= Sammelergebnis), 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min und 30 min.

Die sich aus der Probennahme (jeweils 2 ml) ergebende Verminderung des Volumens an Sammelmedium wurde für den KSF 70 wegen der nur geringgradigen Erhöhung der theoretischen Umlaufzahl als unbedeutend angesehen. Um einer zu starken Abnahme des Mediums im AGI 30 vorzubeugen, war der AGI 30 vor den Sammelversuchen (Kapitel 3.10.4.) mit 66 statt der sonst üblichen 60 ml Sammelmedium beschickt worden.

Die Versuche wurden bei Raumtemperaturen von 21 - 22°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 28 % durchgeführt.

3.10.7. Untersuchungen zur Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit

Ziel dieser Versuchsreihe war es abzuklären, ob das Sammelergebnis bei Einsatz geeigneter Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension und geeigneter Sammelmedien von der jeweils herrschenden relativen Luftfeuchtigkeit beeinflusst wird.

Die Versuche wurden bei niedriger (20 - 30 %), mittlerer (55 - 65 %) und hoher (83 - 93 %) relativer Luftfeuchtigkeit an der großen Aerosolkammer durchgeführt. Die Bereiche mittlerer und hoher relativer Luftfeuchtigkeit wurden durch Einbringen von Wannen mit gesättigten Salzlösungen in die

Aerosolkammer eingestellt. Für den Bereich mittlerer relativer Luftfeuchtigkeit fand Natrium-Dichromat ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) Verwendung, für den hoher relativer Luftfeuchtigkeit Kupfersulfat-Pentahydrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Die Versuche bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit wurden im Winterhalbjahr durchgeführt, als die Luftfeuchtigkeit im Labor bei entsprechenden Werten lag.

Als Schutzsubstanzen wurden den Vernebelungssuspensionen Pferdeserum¹⁾ (20 %), Inosit (1 %) und Bentonit (0,4 %, nur ECBO-Virus) zugesetzt.

Folgende Sammelmedien wurden verwendet:

ECBO-Virus:	Grundmedium mit 0,05 % SRE
IBR/IPV-Virus:	} Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE
ND-Virus:	
Vaccinia-Virus:	Grundmedium mit 4 % Kälberserum ¹⁾ und 0,05 % SRE

Während der Versuche lagen die Raumtemperaturen bei 20 - 26°C.

Versuchsdurchführung:

Der Aerosolgenerator wurde 3 min lang mit einem Druck von 0,5 bar betrieben, entsprechend einem Luftdurchsatz von 8 l/min. Dabei wurden durchschnittlich 0,7 ml Virussuspension vernebelt.

Nach einer Aerosoläquilibrierungszeit von 7 min wurde 5 min lang gleichzeitig mit dem KSF 70 und dem AGI 30 gesammelt.

1) 1/2 Stunde bei 56°C inaktiviert

Der KSF 70 wurde "im Durchfluß" betrieben (ca. 208 ml Sammelmedium in 5 min), der AGI 30 war mit 60 ml Sammelmedium gefüllt. Der Luftdurchsatz betrug bei beiden Sammlern 12 l/min.

3.10.8. Bestimmung der Nachweisgrenze von Viraerosolen für den KSF 70 und den AGI 30

Zweck dieser Versuchsreihe war es festzustellen, ab welcher Viruskonzentration in der Kammerluft der Virusnachweis mit dem KSF 70 und dem AGI 30 nicht mehr möglich ist.

Dazu wurden von den zur Vernebelung bestimmten Virussuspensionen Verdünnungen mit Faktor 10 hergestellt. Als Verdünnungsmedium diente das Erhaltungsmedium der für die Vermehrung der jeweiligen Virusart verwendeten Zelllinie.

Die Versuche wurden für ECBO-Virus bei mittlerer relativer Luftfeuchtigkeit (55 - 65 %), für IBR/IPV-Virus, ND-Virus und Vaccinia-Virus bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit (20 - 30 %) an der großen Aerosolkammer durchgeführt. Die Raumtemperaturen lagen bei 20 - 25°C.

Folgende Schutzsubstanzen und Sammelmedien wurden für die einzelnen Virusarten verwendet:

Virusart	Schutzsubstanz	Sammelmedium
ECBO-Virus	-	Grundmedium mit 0,05 % SRE
IBR/IPV- und ND-Virus	20 % Pferdeserum ¹⁾	Grundmedium ²⁾ mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE
Vaccinia-Virus	20 % Pferdeserum ¹⁾	Grundmedium mit 4 % Kälberserum ¹⁾ und 0,05 % SRE

1) 1/2 Stunde bei 56°C inaktiviert

2) im Falle von IBR/IPV-Virus ohne Zusatz von Antibiotika

Versuchsdurchführung:

Der Aerosolgenerator wurde 3 min lang mit einem Druck von 0,5 bar, entsprechend einem Luftdurchsatz von 8 l/min, betrieben. Dabei wurden durchschnittlich 0,7 ml Virussuspension vernebelt.

Nach einer Aerosolstabilisierungszeit von 1 min wurde 5 min lang gleichzeitig mit dem KSF 70 und dem AGI 30 gesammelt. Für den KSF 70 wurde der Sammelmodus "im Kreislauf" gewählt. Die Menge an Sammelmedium betrug bei beiden Sammlern je 60 ml. Beide Sammler arbeiteten mit einem Luftdurchsatz von 12 l/min.

3.10.9. Bestimmung der Überlebensrate von luftgetragennem IBR/IPV-Virus unter Berücksichtigung der physikalischen Aerosolverluste

Um die Überlebensrate luftgetragener Viren zu bestimmen, ist es notwendig, die biologische Aerosolabmangelung von der physikalischen zu unterscheiden.

Unter der biologischen Aerosolabmangelung versteht man die Inaktivierung von infektiösen Viruspartikeln unter nicht zuträglichen Umweltbedingungen. Die physikalische Abmangelung kann man mit SONGER (1967) einfach als Verlust von Viruspartikeln (infektiös und nicht infektiös) aus dem Aerosol bezeichnen. Dieser Verlust kann auftreten durch gravitationsbedingtes Absetzen, Adsorption an innere Oberflächen der Versuchsanordnung oder Verdünnung des Aerosols.

Der physikalischen Aerosolabmangelung wird Rechnung getragen, indem der Virus-Vernebelungssuspension ein Marker zugesetzt wird, der mit der gleichen Effizienz wie die

Viren aerosolisiert, gesammelt und nachgewiesen werden kann, sich aerodynamisch wie diese verhält, unter den vorherrschenden Umweltbedingungen jedoch keinerlei Aktivitätsverlust unterliegt. Verluste des Markers können somit ganz der physikalischen Abmangelung zugeschrieben werden.

Nach SPENDLOVE und FANNIN (1982) stellt die Verwendung lebender Sporen von *Bacillus subtilis* var. *niger* (*Bacillus globigii*) die am meisten anerkannte und verbreitete Methode der Markierung von Virusaerosolen dar.

In einer Versuchsreihe an der großen Aerosolkammer wurde die prozentuale Überlebensrate von luftgetragennem IBR/IPV-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % und einer Temperatur von 22 - 25°C ermittelt.

Als Marker wurden der Vernebelungssuspension einige Milliliter einer Sporensuspension von *Bacillus subtilis* var. *niger* in physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt.

Als Sammelmedium wurde Grundmedium ohne Antibiotikazusatz mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE verwendet.

Sämtliche Proben wurden für die virologische und bakteriologische Auswertung in doppelter Anzahl gezogen. Den für die virologische Auswertung bestimmten Proben wurden nachträglich Antibiotika in der für das Grundmedium üblichen Art und Konzentration (vgl. Kapitel 3.9.) zugesetzt.

Die prozentuale Überlebensrate von IBR/IPV-Virus wurde nach folgender Formel (SPENDLOVE und FANNIN, 1982) errechnet:

$$\text{prozentuale Überlebensrate} = \frac{\text{Sporengehalt}(v)}{\text{Virustiter}(v)} \times \frac{\text{Virustiter}(s)}{\text{Sporengehalt}(s)} \times 100$$

Sporengehalt(v) ... KBE/ml Vernebelungssuspension
 Virustiter(v) ... PBE/ml Vernebelungssuspension
 Sporengehalt(s) ... KBE/ml Sammelprobe
 Virustiter(s) ... PBE/ml Sammelprobe

Die Versuche wurden im Rahmen der Versuchsreihe zur Ermittlung der Nachweisgrenze von Virusaerosolen für die Sammler durchgeführt. Genaue Angaben zur Versuchsdurchführung finden sich im entsprechenden Kapitel (3.10.8.).

3.11. Methodik der Versuchsauswertung

3.11.1. Die Bewertungszahl

Um den Einfluß verschiedener Faktoren, wie z.B. Sammelmodus, Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension, Zusammensetzung des Sammelmediums, relative Luftfeuchtigkeit in der Aerosolkammer, etc. auf die Sammelleistung des KSF 70 und des AGI 30 beurteilen zu können, wurde die Bewertungszahl (B) eingeführt.

Sie stellt die positive, auf 1 Stelle hinter dem Komma gerundete Differenz zwischen dem Virustiter in der Vernebelungssuspension¹⁾ (in $\log_{10}$ KID₅₀/ml) und dem Virustiter im Sammelmedium (in $\log_{10}$ KID₅₀/ml) dar. Je kleiner die Bewertungszahl ist, umso besser ist das Sammelergebnis. Bei mehreren Parallelversuchen wird aus den einzelnen Bewertungszahlen das arithmetische Mittel gebildet. Man erhält so die mittlere Bewertungszahl ($\bar{B}$). In den Tabellen des Ergebnisteils ist stets nur $\bar{B}$ angegeben.

¹⁾ Die im Ergebnisteil für die Vernebelungssuspensionen angegebenen Virustiter stellen sämtlich Mittelwerte aus einer Vielzahl von Titrierungen desselben Viruspools dar

Im folgenden soll kurz die Ableitung der Bewertungszahl dargelegt werden. Ausgangspunkt ist die Formel für die Berechnung der prozentualen Rückgewinnungsrate (R %) an vernebelten KID₅₀:

$$R \% = \frac{\text{Virustiter Sammelmedium in KID}_{50}/\text{ml} \times \text{Volumen Sammelmedium in ml}}{\text{Virustiter Vernebelungssuspension in KID}_{50}/\text{ml} \times \text{Volumen vernebelte Virus-suspension in ml}} \times 100 \quad (1)$$

Werden nun innerhalb einer Versuchsreihe Vernebler und Sammler in genau gleicher Weise eingesetzt, so sind für alle Versuche die in die Formel einzusetzenden Mengen an Sammelmedium und Vernebelungssuspension annähernd gleich. Die Höhe der Sammelleistung hängt somit nur von dem Quotienten

$$Q = \frac{\text{Virustiter Sammelmedium in KID}_{50}/\text{ml}}{\text{Virustiter Vernebelungssuspension in KID}_{50}/\text{ml}} \quad (2)$$

ab.

Der negative Logarithmus dieses Quotienten entspricht der positiven Differenz der Virustiter (in $\log_{10} \text{KID}_{50}$) in Sammelmedium und Vernebelungssuspension und damit der Bewertungszahl (B). Die Bewertungszahl wird daher wie der Virustiter in $\log_{10}$ angegeben.

Die mittlere Bewertungszahl ($\bar{B}$) errechnet sich aus den Bewertungszahlen von n Parallelversuchen B_1 bis B_n als deren arithmetisches Mittel

$$\bar{B} = \frac{B_1 + B_2 + B_3 + \dots + B_n}{n} \quad (3)$$

oder als negativer Logarithmus des geometrischen Mittels der für die Versuche nach (2) berechneten Quotienten Q_1 bis Q_n

$$\bar{B} = -\log_{10} \sqrt[n]{Q_1 \cdot Q_2 \cdot Q_3 \cdot \dots \cdot Q_n}. \quad (4)$$

Die Größe der Bewertungszahl hat für sich gesehen keinen Aussagewert. Sie läßt nur eine vergleichende Beurteilung von Sammelergebnissen zu, die bei technisch gleichartiger Versuchsdurchführung am selben Versuchsaufbau gewonnen worden sind. Unterscheiden sich die mittleren Bewertungszahlen zu vergleichender Sammelergebnisse um $0,1 \log_{10}$, so unterscheiden sich die Sammelergebnisse um den Faktor $10^{0,1}$ ($\sim 1,3$). Bei einem Unterschied der mittleren Bewertungszahlen von $0,2 \log_{10}$ ergibt sich ein Faktor von $10^{0,2}$ ($\sim 1,6$), bei einem Unterschied von $0,3 \log_{10}$ ein Faktor von $10^{0,3}$ ($\sim 2,0$), usw..

Die prozentuale Rückgewinnungsrate an KID₅₀ wurde nicht als Maß für die Sammelleistung verwendet, da die absolute Größe des Prozentwerts nur für die jeweilige Versuchsanordnung Gültigkeit hat. Die Bewertungszahlen machen dagegen eine relative Aussage darüber, welche Bedingungen (z.B. relative Luftfeuchtigkeit, Schutzsubstanzen, Sammelmedien) zu einer besseren oder schlechteren Sammelleistung führen. Diese Aussage ist allgemeingültig.

Gegen die Prozentrechnung spricht außerdem, daß selbst nahe beieinander liegende Sammelergebnisse bei Errechnung der prozentualen Rückgewinnungsraten scheinbar stark voneinander abweichen. Dies ist in dem Verfahren der Virus-titrierung mit Endpunktbestimmung begründet. Der kleinste feststellbare Titerunterschied beträgt $0,25 \log_{10}$, was einem Faktor von $10^{0,25}$ ($\sim 1,8$) entspricht. Beträgt z.B. in einem Versuch die Virus-Rückgewinnungsrate 50 %, so

ergibt sich in einem Parallelversuch mit minimal höherem Titer im Sammelmedium ($0,25 \log_{10}$) schon eine fast doppelt so hohe Rückgewinnungsrate von 90 %.

In diesem Zusammenhang soll kurz auf die Genauigkeit des Verfahrens der Virustitrierung mit Endpunktbestimmung eingegangen werden. In Vorversuchen wurden bei mehrfacher Titrierung der gleichen Probe Titer erhalten, die um maximal $\pm 0,5 \log_{10}$ von dem errechneten Mittelwert abweichen. Aus diesem Grunde werden Unterschiede zwischen Versuchsergebnissen nur dann als signifikant angesehen, wenn der Differenzbetrag zwischen den (mittleren) Bewertungszahlen größer als $0,5 \log_{10}$ ist.

In den Tabellen des Ergebnisteils ist nur dann eine mittlere Bewertungszahl aufgeführt, wenn in mindestens 2 von 3 oder 4 Parallelversuchen ein positives Sammelergebnis erzielt wurde. War in nicht allen Parallelversuchen Virus im Sammelmedium nachweisbar, so trägt die mittlere Bewertungszahl das Vorzeichen $>$ (größer).

3.11.2. Vergleich der Sammelleistung des KSF 70 mit der des AGI 30 (V-Wert)

Als Grundlage für den Sammlervergleich dienen die Virustiter im Sammelmedium, die mit den beiden Sammlern unter jeweils identischen Versuchsbedingungen erzielt wurden. Dazu müssen allerdings die erhaltenen Virustiter auf gleiches Volumen an Sammelmedium umgerechnet werden.

Die gesammelten Viren verteilen sich beim AGI 30 in 60 ml Sammelmedium, beim KSF 70, der im Durchfluß betrieben wurde, aber in durchschnittlich 208 ml (Mittelwert aus 60 Versuchen). Hätte sich beim KSF 70 dieselbe Menge

infektiöser Einheiten ebenfalls nur in 60 ml Sammelmedium abgeschieden, so lägen sie in 3,47facher Konzentration vor, d.h. der Virustiter läge um $0,54 \log_{10}$ höher ($3,47 = 10^{0,54}$). Solchermaßen umgerechnete Virustiter im Sammelmedium des KSF 70 sind in den Tabellen des Ergebnisteils mit dem in Klammern hinzugefügten Wort "Vergleich" kenntlich gemacht.

Zum Vergleich der Sammlerleistungen in einer Reihe von Parallelversuchen wird aus den für die beiden Sammler errechneten mittleren Bewertungszahlen die Differenz gebildet, die im folgenden als Vergleichswert (V) bezeichnet wird:

$$V = \bar{B}_{\text{KSF 70 (Vergleich)}} - \bar{B}_{\text{AGI 30}} \quad (5)$$

Dabei zeigt ein positiver Wert für V ($V > 0$) eine bessere Sammelleistung für den AGI 30 an, ein negativer Wert für V ($V < 0$) eine bessere Sammelleistung für den KSF 70.

Bezüglich des Aussagewertes von V gilt das im vorigen Kapitel (3.11.1.) für die Bewertungszahl Gesagte entsprechend. V wird wie die Bewertungszahlen in $\log_{10}$ angegeben.

Ein Betrag des V-Wertes von $0,1 \log_{10}$ bedeutet einen Faktor von $10^{0,1}$ ($\sim 1,3$) zwischen den Abscheideleistungen der beiden Sammler, ein Betrag des V-Wertes von $0,2 \log_{10}$ einen Faktor von $10^{0,2}$ ($\sim 1,6$), usw.

Aufgrund der relativ geringen Genauigkeit der Virustitrierung (vgl. Kapitel 3.11.1.) werden unterschiedliche Sammlerleistungen nur dann als signifikant angesehen, wenn der Betrag von V größer als $0,5 \log_{10}$ ist.

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse der Vorversuche

Tabelle 1: Ergebnisse der Vorversuche mit ECBO-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml)	Sammelmodus	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml)	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
	Vernebelungs- suspension		Sammelmedium KSF 70	
1	8,00	im Kreislauf	4,00	} 3,3
2	8,00	im Kreislauf	4,75	
3	6,50	im Kreislauf	3,75	
4	7,00	im Durchfluß	3,50	} 3,5
5	7,00	im Durchfluß	3,75	
6	7,00	im Durchfluß	3,25	

Aus den mittleren Bewertungszahlen in Tabelle 1 ist ersichtlich, daß die 2 verschiedenen Sammelmodi nur zu einem kaum nachweisbaren Unterschied der ECBO-Virustiter im Sammelmedium führten.

Tabelle 2: Ergebnisse der Vorversuche mit IBR/IPV-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Sammelmodus	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{x}$ in $\log_{10}$
1	6,50	im Kreislauf	2,50	} 3,8
2	6,50	im Kreislauf	3,25	
3	6,50	im Kreislauf	2,25	
4	6,75	im Durchfluß	2,25	} 4,8
5	6,75	im Durchfluß	2,00	
6	6,75	im Durchfluß	1,50	

Mit dem Sammelmodus "im Kreislauf" wurde die 10fache Kon-
zentration von IBR/IPV-Virus im Sammelmedium erzielt wie
mit dem Sammelmodus "im Durchfluß" (Tabelle 2).

Tabelle 3: Ergebnisse der Vorversuche mit ND-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Sammelmodus	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	6,50	im Kreislauf	n.n.	} $>4,6$
2	5,75	im Kreislauf	$\leq 1,00$	
3	5,75	im Kreislauf	$\leq 1,25$	
4	5,75	im Durchfluß	n.n.	} -
5	5,75	im Durchfluß	n.n.	
6	6,25	im Durchfluß	n.n.	

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

Während beim Sammelmodus "im Kreislauf" ND-Virus gerade noch nachweisbar war, sank bei Betrieb des KSF 70 "im Durchfluß" die Konzentration der Viren im Sammelmedium unter die Nachweisgrenze (Tabelle 3).

Tabelle 4: Ergebnisse der Vorversuche mit Vaccinia-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Sammelmodus	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	6,50	im Kreislauf	2,50	} 3,6
2	6,50	im Kreislauf	3,25	
3	6,75	im Kreislauf	3,25	
4	6,50	im Durchfluß	3,00	} 3,9
5	6,50	im Durchfluß	2,50	
6	6,50	im Durchfluß	2,25	

Aus den nahe beieinanderliegenden mittleren Bewertungszahlen in Tabelle 4 geht hervor, daß unter den Versuchsbedingungen der Einfluß des Sammelmodus auf die Konzentration von Vaccinia-Virus im Sammelmedium nur gering war.

4.2. Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren

Tabelle 5: Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität von ECBO-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Schutzsub- stanzen	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	7,00	keine	3,50	} 3,4
2	7,00	keine	3,75	
3	7,00	keine	3,50	
4	7,25	20 % Pferde- serum	3,50	} 3,7
5	7,25	20 % Pferde- serum	3,50	
6	6,50	20 % Pferde- serum	3,00	
7	7,50	0,4 % Bentonit	4,25	} 3,3
8	7,50	0,4 % Bentonit	4,25	
9	7,50	0,4 % Bentonit	4,25	
10	6,75	1 % Inosit	4,25	} 2,6
11	6,75	1 % Inosit	4,50	
12	6,75	1 % Inosit	3,75	

In den Versuchen Nr. 1 - 3 war bei geringgradig höherem Durchsatz von Sammelmedium durch den KSF 70 die Sammelzeit etwas kürzer als in den Versuchen Nr. 4 - 12 (vgl. Kapitel 3.10.2.).

Die Sammelergebnisse (Tabelle 5) bei Verwendung der Schutzsubstanzen Bentonit und Pferdeserum bzw. bei Verwendung keiner Schutzsubstanz liegen mit $\bar{B} = 3,3$, $3,7$ bzw. $3,4 \log_{10}$ nahe beieinander. Das im Vergleich deutlich bessere Sammel-

ergebnis bei Zusatz von 1 % Inosit zur Vernebelungssuspension ($\bar{B} = 2,6 \log_{10}$) weist auf eine ausgeprägte Schutzwirkung dieser Substanz auf luftgetragenes ECBO-Virus hin.

Tabelle 6: Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität von IBR/IPV-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Schutzsub- stanzen	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	6,50	keine	n.n.	}
2	6,50	keine	n.n.	
3	6,50	keine	n.n.	
4	6,75	20 % Pferde- serum	2,75	}
5	6,75	20 % Pferde- serum	3,00	
6	6,75	20 % Pferde- serum	1,75	
7	7,00	0,4 % Bentonit	$\leq 1,00$	}
8	7,00	0,4 % Bentonit	n.n.	
9	7,25	0,4 % Bentonit	1,75	
10	6,50	1 % Inosit	2,75	}
11	6,50	1 % Inosit	2,50	
12	6,50	1 % Inosit	2,50	

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

In den Versuchen Nr. 1 - 3 war bei geringgradig höherem Durchsatz von Sammelmedium durch den KSF 70 die Sammelzeit etwas kürzer als in den Versuchen Nr. 4 - 12 (vgl. Kapitel 3.10.2.).

Aus den Ergebnissen der Tabelle 6 ergibt sich, daß Pferdeserum und Inosit als Schutzsubstanzen für luftgetragenes IBR/IPV-Virus etwa gleich gut geeignet sind ($\bar{B} = 4,3$ und $3,9 \log_{10}$). Mit Bentonit war unter den Versuchsbedingungen der Virusnachweis gerade noch möglich, ganz ohne Schutzsubstanzen gelang er nicht.

Tabelle 7: Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität von ND-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Schutzsub- stanzen	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	6,25	keine	n.n.	}
2	6,25	keine	n.n.	
3	6,25	keine	n.n.	
4	6,25	20 % Pferde- serum	1,50	}
5	6,25	20 % Pferde- serum	$\leq 1,25$	
6	5,00	20 % Pferde- serum	$\leq 1,50$	
7	6,25	0,4 % Bentonit	n.n.	}
8	6,25	0,4 % Bentonit	1,75	
9	5,00	0,4 % Bentonit	n.n.	
10	4,75	1 % Inosit	$\leq 1,00$	}
11	4,75	1 % Inosit	$\leq 1,00$	
12	4,75	1 % Inosit	$\leq 1,00$	

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

In den Versuchen Nr. 1 - 3 war bei geringgradig höherem Durchsatz von Sammelmedium durch den KSF 70 die Sammelzeit etwas kürzer als in den Versuchen Nr. 4 - 12 (vgl. Kapitel 3.10.2.).

Aus Tabelle 7 ist ersichtlich, daß Pferdeserum und Inosit in der Vernebelungssuspension zu wesentlich besseren Sammelergebnissen führten als Bentonit. Ohne Schutzsubstanzen war unter den Versuchsbedingungen kein Virusnachweis möglich.

Tabelle 8: Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität von Vaccinia-Virus

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Schutzsub- stanzen	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium KSF 70	$\bar{B}$ in $\log_{10}$
1	6,50	keine	2,00	} 4,3
2	6,50	keine	2,50	
3	6,50	keine	2,25	
4	6,50	20 % Pferde- serum	2,75	} 3,3
5	6,50	20 % Pferde- serum	2,75	
6	6,00	20 % Pferde- serum	3,50	
7	6,50	0,4 % Bentonit	3,00	} 3,1
8	6,50	0,4 % Bentonit	3,25	
9	6,00	0,4 % Bentonit	3,50	
10	6,00	1 % Inosit	3,00	} 3,0
11	6,00	1 % Inosit	3,00	
12	6,00	1 % Inosit	3,00	

In den Versuchen Nr. 1 - 3 war bei geringgradig höherem Durchsatz von Sammelmedium durch den KSF 70 die Sammelzeit etwas kürzer als in den Versuchen Nr. 4 - 12 (vgl. Kapitel 3.10.2.).

Ein signifikanter Unterschied zwischen der protektiven Wirkung von Pferdeserum, Bentonit und Inosit auf luftgetragenes Vaccinia-Virus ist aus den Ergebnissen in Tabelle 8 nicht ersichtlich ($\bar{B} = 3,3$, $3,1$ und $3,0 \log_{10}$). Die Sammelergebnisse aus den Versuchen ohne Schutzsubstanzen liegen um einen Faktor 10 - 20 niedriger ($\bar{B} = 4,3 \log_{10}$).

4.3. Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute

Tabelle 9: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,75	4,25	4,79	4,50
2	7,75	3,75	4,29	4,25
3	6,50	2,25	2,79	3,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,9	3,4	3,2

$$V = + 0,2 \log_{10}$$

Tabelle 10: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 30 % MEM und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	4,25	4,79	4,75
2	7,00	2,50	3,04	3,50
3	7,00	2,50	3,04	4,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,9	3,4	2,7

$$V = + 0,7 \log_{10}$$

Tabelle 11: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4,35 % Glycerin und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	2,75	3,29	3,00
2	7,00	3,75	4,29	3,50
3	7,00	3,25	3,79	3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,7	3,2	3,6

$$V = - 0,4 \log_{10}$$

Aus den Tabellen 9 - 11 geht hervor, daß für den KSF 70 die Sammelergebnisse mit allen 3 Sammelmedien nahe beieinanderliegen ($\bar{B} = 3,9$, $3,9$ und $3,7 \log_{10}$). Die mittleren Bewertungszahlen aus den Versuchen mit dem AGI 30 weisen eine größere Streuung auf. Grundmedium mit Zusatz von 30 % MEM hat mit $\bar{B} = 2,7 \log_{10}$ eine wesentlich höhere Sammeleffizienz als Grundmedium mit Zusatz von 4,35 % Glycerin ($\bar{B} = 3,6 \log_{10}$).

Der Sammlervergleich ergibt, daß die Sammelleistungen von KSF 70 und AGI 30 nur im Falle der Verwendung von MEM als Mediumzusatz deutlich voneinander abwichen. Mit $V = +0,7 \log_{10}$ wurde im AGI 30 etwa 5mal so viel luftgetragenes ECBO-Virus wie im KSF 70 abgeschieden.

Tabelle 12: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei Verwendung von Grundmedium

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,50	1,50	2,04	2,75
2	6,50	1,00	1,54	1,75
3	6,50	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	2,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		$\geq 5,4$	$\geq 4,9$	4,3

$$V \geq + 0,6 \log_{10}$$

Tabelle 13: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
Nr.	Vernebelungs-suspension	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,25	2,75	3,29	3,50
2	6,50	2,00	2,54	2,00
3	6,50	3,00	3,54	3,00

$\bar{B}$ in $\log_{10}$ 4,2 3,6 3,9

$V = - 0,3 \log_{10}$

Tabelle 14: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Pferdeserum und 0,05 % SRE

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
Nr.	Vernebelungs-suspension	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,50	2,50	3,04	3,75
2	6,50	1,50	2,04	3,00
3	6,50	2,50	3,04	2,75

$\bar{B}$ in $\log_{10}$ 4,3 3,7 3,3

$V = + 0,4 \log_{10}$

Tabelle 15: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml)		Sammelmedium
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	
1	6,50	3,25	3,79	3,25
2	6,50	3,25	3,79	3,50
3	6,50	2,75	3,29	2,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,4	2,9	3,3

$$V = - 0,4 \log_{10}$$

Beim Vergleich der in den Tabellen 12 - 15 dargestellten Versuchsergebnisse zeigt sich, daß unter den getesteten Sammelmedien Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE für die Sammlung von luftgetragenen IBR/IPV-Virus mit dem KSF 70 am geeignetsten war ($\bar{B} = 3,4 \log_{10}$). Dagegen führte die Verwendung von Grundmedium mit 4 % Pferde- bzw. Kälberserum und 0,05 % SRE zu um einen Faktor 6 - 8 schlechteren Sammelergebnissen ($\bar{B} = 4,3$ bzw. $4,2 \log_{10}$). Grundmedium allein war als Sammelmedium kaum geeignet ($\bar{B} \geq 5,4 \log_{10}$).

Mit dem AGI 30 ließen sich die besten Sammelergebnisse mit dem gleichen Medium wie mit dem KSF 70 erzielen ($\bar{B} = 3,3 \log_{10}$). Die beiden serumhaltigen Sammelmedien standen dahinter nur wenig oder gar nicht zurück ($\bar{B} = 3,3$ und $3,9 \log_{10}$).

Ein Blick auf die V-Werte zeigt, daß die Abscheideleistungen der beiden Sammler nur bei Verwendung von Grundmedium ohne Zusätze nennenswert differierten. $V \geq + 0,6 \log_{10}$ bedeutet eine etwa 4mal so hohe Ausbeute an infektiösen Einheiten im AGI 30 wie im KSF 70.

Tabelle 16: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei Verwendung von Grundmedium

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml)		Sammelmedium
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	
1	6,25	n.n.	-	n.n.
2	6,25	n.n.	-	n.n.
3	6,25	n.n.	-	n.n.

$\bar{B}$ in $\log_{10}$ - - -

V = -

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

Tabelle 17: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Pferdeserum und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml)		Sammelmedium
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	
1	6,25	2,50	3,04	3,00
2	6,25	2,50	3,04	2,50
3	6,25	2,25	2,79	2,00

$\bar{B}$ in $\log_{10}$ 3,8 3,3 3,8

V = - 0,5 $\log_{10}$

Tabelle 18: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4,35 % Glycerin und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}^{\text{KID}_{50}/\text{ml}}$) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}^{\text{KID}_{50}/\text{ml}}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,25	n.n.	-	1,50
2	6,25	n.n.	-	$\leq 1,00$
3	6,25	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	$\leq 1,00$
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		-	-	$\geq 5,1$

V = -

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

Tabelle 19: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}^{\text{KID}_{50}/\text{ml}}$) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}^{\text{KID}_{50}/\text{ml}}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,25	2,50	3,04	2,50
2	6,25	2,50	3,04	3,50
3	6,25	2,25	2,79	2,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,8	3,3	3,3

V = $\pm 0,0 \log_{10}$

Tabelle 20: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 0,2 % Pepton und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,25	n.n.	-	$\leq 1,00$
2	6,25	n.n.	-	n.n.
3	6,25	n.n.	-	n.n.

$\bar{B}$ in $\log_{10}$ - - -

V = -

Aus den Tabellen 16 - 20 geht folgendes hervor:

Grundmedium führte sowohl allein als auch mit Zusatz von 4,35 % Glycerin und 0,05 % SRE oder 0,2 % Pepton und 0,05 % SRE zu keiner bzw. einer nur sehr geringen Sammelausbeute an infektiösem ND-Virus im KSF 70 und AGI 30 (mittlere Bewertungszahlen nicht berechenbar bzw. $\geq 5,1$).

Demgegenüber konnte das Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Pferdeserum und 0,05 % SRE oder Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE mit beiden Sammlern leicht nachgewiesen werden ($\bar{B} = 3,3$ und $3,8 \log_{10}$).

Der Betrag der V-Werte, der zwischen 0,0 und $0,5 \log_{10}$ schwankt, läßt nicht auf signifikante Unterschiede in der Abscheideeffizienz der beiden Sammler schließen.

Tabelle 21: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	2,25	2,79	2,75
2	6,75	2,75	3,29	2,75
3	6,75	1,75	2,29	2,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		4,6	4,0	4,3

$$V = - 0,3 \log_{10}$$

Tabelle 22: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 30 % MEM und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	2,00	2,54	2,50
2	7,00	2,50	3,04	2,75
3	7,00	1,50	2,04	1,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		5,0	4,5	4,7

$$V = - 0,2 \log_{10}$$

Tabelle 23: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	4,00	4,54	3,50
2	7,00	3,50	4,04	4,00
3	7,00	3,25	3,79	4,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,4	2,9	3,2

$$V = - 0,3 \log_{10}$$

Tabelle 24: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei Verwendung von Grundmedium mit 4 % Pferdeserum und 0,05 % SRE

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	4,00	4,54	3,50
2	7,00	3,25	3,79	4,50
3	7,00	3,50	4,04	4,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,4	2,9	3,0

$$V = - 0,1 \log_{10}$$

Aus den Tabellen 21 - 24 geht hervor, daß Grundmedium mit Zusatz von 4 % Kälber- oder Pferdeserum und 0,05 % SRE sowohl mit dem KSF 70 als auch mit dem AGI 30 zu Sammelergebnissen ($\bar{B}$ zwischen 3,0 und 3,4 $\log_{10}$) führte, die deutlich über denen liegen, die sich bei Verwendung von Grundmedium mit 0,05 % SRE oder Grundmedium mit 30 % MEM und 0,05 % SRE ergaben ($\bar{B}$ zwischen 4,3 und 5,0 $\log_{10}$). Aus dem Differenzbetrag zwischen den jeweiligen mittleren Bewertungszahlen ist ersichtlich, daß mit den serumhaltigen Sammelmedien etwa 20 - 40mal so viel infektiöses Vaccinia-Virus gesammelt wurde wie mit den beiden anderen getesteten Sammelmedien.

V-Werte mit einem Betrag von nur 0,1 bis 0,3 $\log_{10}$ sprechen für einen ungefähr gleich effizienten Sammelvorgang im KSF 70 und im AGI 30.

4.4. Ergebnisse des kombinierten Einsatzes von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammelausbeute

Tabelle 25: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE, Schutzsubstanz: keine)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,50	3,00	3,54	3,25
2	6,50	3,50	4,04	3,50
3	6,50	2,75	3,54	3,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,4	2,8	3,0

$$V = -0,2 \log_{10}$$

Da bei den in Tabelle 25 aufgeführten Versuchen keine Schutzsubstanz zum Einsatz kam, handelt es sich im Prinzip um Parallelversuche zu den in Kapitel 4.3. (Tabelle 9) dargestellten Versuchen. Die dort ermittelten mittleren Bewertungszahlen seien zum Vergleich hier nochmals wiedergegeben:

	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
$\bar{B}$ in $\log_{10}$	3,9	3,4	3,2

Der Vergleich der mittleren Bewertungszahlen beider Versuchsreihen ergibt - im Falle des KSF 70 nur knappe - Übereinstimmung zwischen den Versuchsergebnissen im Rahmen der Genauigkeit des Auswertungsverfahrens.

$V = -0,2 \log_{10}$ bedeutet praktisch gleiche Abscheideeffizienz in beiden Sammlern (Tabelle 25).

Tabelle 26: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE, Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10} \frac{\text{KID}_{50}}{\text{ml}}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,00	3,75	4,29	3,25
2	6,00	3,25	3,79	3,00
3	6,50	3,25	3,79	4,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		2,8	2,2	2,7

$$V = - 0,5 \log_{10}$$

Aus den Ergebnissen der Versuche, in denen zwar das gleiche Sammelmedium wie in Tabelle 26, aber keine Schutzsubstanz eingesetzt wurde, errechnen sich folgende mittlere Bewertungszahlen (vgl. Kapitel 4.3., Tabelle 15):

	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
$\bar{B}$ in $\log_{10}$	3,4	2,9	3,3

Aus dem Vergleich der mittleren Bewertungszahlen beider Versuchsreihen ergibt sich sowohl für den KSF 70 als auch für den AGI 30 eine bessere Abscheideleistung (Faktor 4) bei kombiniertem Einsatz von Schutzsubstanz und Sammelmedium mit bovinem Serumalbumin gegenüber der alleinigen Verwendung des genannten Sammelmediums.

$V = - 0,5 \log_{10}$ steht für einen nur geringen Unterschied zwischen den Sammeleffizienzen von KSF 70 und AGI 30 (Tabelle 26).

Tabelle 27: Sammelergebnisse mit ND-Virus (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE, Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
Nr.	Vernebelungs-suspension			
1	6,25	2,75	3,29	2,00
2	6,25	2,50	3,04	2,75
3	5,25	2,00	2,54	2,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,5	3,0	3,4

$$V = - 0,4 \log_{10}$$

Aus den Ergebnissen der Versuche, in denen zwar das gleiche Sammelmedium wie in Tabelle 27, aber keine Schutzsubstanz eingesetzt wurde, errechnen sich folgende mittlere Bewertungszahlen (vgl. Kapitel 4.3., Tabelle 19):

	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
$\bar{B}$ in $\log_{10}$	3,8	3,3	3,3

Aus dem Vergleich der mittleren Bewertungszahlen beider Versuchsreihen ergibt sich, daß die Sammelergebnisse, die bei kombiniertem Einsatz von Schutzsubstanz und Sammelmedium mit bovinem Serumalbumin erzielt wurden, sich nur geringfügig von denen unterscheiden, die bei der alleinigen Verwendung des genannten Sammelmediums erhalten wurden.

$V = - 0,4 \log_{10}$ steht für einen nur geringen Unterschied zwischen den Sammeleffizienzen von KSF 70 und AGI 30 (Tabelle 27).

Tabelle 28: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE, Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Vernebelungs- suspension	Virustiter ($\log_{10}$ KID ₅₀ /ml) Sammelmedium		
		KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,50	3,50	4,04	3,50
2	6,50	3,25	3,79	4,25
3	6,50	3,00	3,54	3,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$		3,3	2,7	2,8

$$V = - 0,1 \log_{10}$$

Aus den Ergebnissen der Versuche, in denen zwar das gleiche Sammelmedium wie in Tabelle 28, aber keine Schutzsubstanz eingesetzt wurde, errechnen sich folgende mittlere Bewertungszahlen (vgl. Kapitel 4.3., Tabelle 23):

	KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
$\bar{B}$ in $\log_{10}$	3,4	2,9	3,2

Aus dem Vergleich der mittleren Bewertungszahlen beider Versuchsreihen ergibt sich, daß die Sammelergebnisse, die bei kombiniertem Einsatz von Schutzsubstanz und Sammelmedium mit Kälberserum erzielt wurden, sich nur geringfügig von denen unterscheiden, die bei der alleinigen Verwendung des genannten Sammelmediums erhalten wurden.

$V = - 0,1 \log_{10}$ steht für einen nur geringen Unterschied zwischen den Sammeleffizienzen von KSF 70 und AGI 30 (Tabelle 28).

4.5. Ergebnisse der Versuche zur Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung

4.5.1. Durchreißeffekt im KSF 70

Tabelle 29: Durchreißeffekt im KSF 70 bei Sammelversuchen mit ECBO-Virus (Sammelmedium: Grundmedium)

Versuch Nr.	Schutzsubstanzen Vernebelungssus- pension	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
		KSF 70	nachgeschalteter AGI 30
1	20 % Pferdeserum	3,50	3,50
2	20 % Pferdeserum	3,50	3,75
3	20 % Pferdeserum	3,50	3,75
4	0,4 % Bentonit	4,25	4,50
5	0,4 % Bentonit	4,25	4,25
6	0,4 % Bentonit	4,25	3,75
7	1 % Inosit	4,25	3,50
8	1 % Inosit	4,50	3,75
9	1 % Inosit	3,75	3,50

Die Sammelergebnisse in Tabelle 29 zeigen, daß unabhängig von der Art der Schutzsubstanz in der Vernebelungssuspension der Durchreißeffekt bei der Sammlung von luftgetragenen ECBO-Virus mit dem KSF 70 stark zutage trat. Die Virustiter im Sammelmedium des nachgeschalteten AGI 30 entsprechen mit nur geringen Abweichungen denen im Sammelmedium des KSF 70.

Tabelle 30: Durchreißeffekt im KSF 70 bei Sammelversuchen
mit IBR/IPV-Virus (Sammelmedium: Grundmedium)

Versuch Nr.	Schutzsubstanzen Vernebelungssus- pension	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
		KSF 70	nachgeschalteter AGI 30
1	20 % Pferdeserum	2,75	$\leq 1,25$
2	20 % Pferdeserum	3,00	$\leq 1,25$
3	20 % Pferdeserum	1,75	$\leq 1,25$
4	0,4 % Bentonit	$\leq 1,00$	n.n.
5	0,4 % Bentonit	n.n.	n.n.
6	0,4 % Bentonit	1,75	n.n.
7	1 % Inosit	2,75	1,50
8	1 % Inosit	2,50	1,75
9	1 % Inosit	2,50	1,25

n.n. ... nicht nachweisbar

Aus den Ergebnissen der Tabelle 30 geht hervor, daß der Durchreißeffekt im KSF 70 zu einem Virustiter im Sammelmedium des nachgeschalteten AGI 30 führte, der durchschnittlich etwa $0,5 - 1 \log_{10}$ unter dem Virustiter im Sammelmedium des KSF 70 liegt. Bei Zusatz von Bentonit zur Vernebelungssuspension konnte luftgetragenes IBR/IPV-Virus mit dem KSF 70 nur noch wenig effektiv gesammelt werden; im nachgeschalteten AGI 30 fand gar keine Abscheidung von infektiösem Virus mehr statt.

Tabelle 31: Durchreißeffekt im KSF 70 bei Sammelversuchen
mit ND-Virus (Sammelmedium: Grundmedium)

Versuch Nr.	Schutzsubstanzen Vernebelungssus- pension	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
		KSF 70	nachgeschalteter AGI 30
1	20 % Pferdeserum	1,50	n.n.
2	20 % Pferdeserum	$\leq 1,25$	n.n.
3	20 % Pferdeserum	$\leq 1,50$	n.n.
4	0,4 % Bentonit	n.n.	$\leq 1,25$
5	0,4 % Bentonit	1,75	$\leq 1,00$
6	0,4 % Bentonit	n.n.	n.n.
7	1 % Inosit	$\leq 1,00$	n.n.
8	1 % Inosit	$\leq 1,00$	n.n.
9	1 % Inosit	$\leq 1,00$	n.n.

n.n. ... nicht nachweisbar

Aus Tabelle 31 geht hervor, daß sich aufgrund des Durchreißeffekts unter den Versuchsbedingungen nur in wenigen Fällen infektiöses ND-Virus im nachgeschalteten AGI 30 abschied.

Tabelle 32: Durchreißeffekt im KSF 70 bei Sammelversuchen
mit Vaccinia-Virus (Sammelmedium: Grundmedium)

Versuch Nr.	Schutzsubstanzen Vernebelungssus- pension	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
		KSF 70	nachgeschalteter AGI 30
1	20 % Pferdeserum	2,75	1,50
2	20 % Pferdeserum	2,75	1,75
3	20 % Pferdeserum	3,50	$\leq 1,25$
4	0,4 % Bentonit	3,00	n.n.
5	0,4 % Bentonit	3,25	n.n.
6	0,4 % Bentonit	3,50	$\leq 1,00$
7	1 % Inosit	3,00	n.n.
8	1 % Inosit	3,00	n.n.
9	1 % Inosit	3,00	$\leq 1,00$

n.n. ... nicht nachweisbar

In dieser Versuchsreihe (Tabelle 32) trat der Durchreißeffekt bei der Abscheidung von luftgetragenen Vaccinia-Virus je nach Art der eingesetzten Schutzsubstanz in unterschiedlichem Maße auf.

So führte Pferdeserum zu Virustitern im Sammelmedium des nachgeschalteten AGI 30, die 1,00 - 1,75 $\log_{10}$ unter denen im Sammelmedium des KSF 70 liegen. Wurdendagegen Inosit oder Bentonit als Schutzsubstanzen verwendet, so war bei ähnlich hohen Sammelergebnissen mit dem KSF 70 kaum mehr eine Virusabscheidung im nachgeschalteten AGI 30 nachweisbar.

4.5.2. Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30

Tabelle 33: Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30
bei Versuchen mit ECBO-Virus (Sammelmedium:
Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)		Sammelmedium	qual. Virusn.
Nr.	KSF 70	AGI 30	nachgeschalteter AGI 30	
1	3,00		n.n.	-
		3,25	n.n.	-
2	3,50		n.n.	-
		3,50	n.n.	-
3	2,75		n.n.	-
		3,75	n.n.	-

qual. Virusn. ... qualitativer Virusnachweis

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... negativ

Aus Tabelle 33 geht hervor, daß unter den Versuchsbedingungen eine Bildung infektiöser Sekundäraerosole weder für den KSF 70 noch für den AGI 30 nachweisbar war.

Tabelle 34: Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30
bei Versuchen mit IBR/IPV-Virus (Sammelmedium:
Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin
und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		qual. Virusn.
Nr.	KSF 70	AGI 30	nachgeschalteter AGI 30
1	3,75		$\leq 0,75$ +
		3,25	n.n. -
2	3,25		n.n. +
		3,00	n.n. +
3	3,25		$\leq 0,75$ +
		4,25	$\leq 1,00$ +

qual. Virusn. ... qualitativer Virusnachweis

n.n. ... nicht nachweisbar

+ ... positiv

- ... negativ

Die Ergebnisse in Tabelle 34 zeigen, daß es sowohl im AGI 30 als auch im KSF 70 zur sekundären Aerosolisierung von bereits im Sammelmedium abgeschiedenem IBR/IPV-Virus kam.

Tabelle 35: Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30 bei Versuchen mit ND-Virus (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10}^{\text{KID}_{50}}/\text{ml}$)		Sammelmedium	qual. Virusn.
Nr.	KSF 70	AGI 30	nachgeschalteter AGI 30	
1	2,75		n.n.	+
		2,00	n.n.	-
2	2,50		n.n.	-
		2,75	n.n.	+
3	2,00		n.n.	+
		2,75	n.n.	-

qual. Virusn. ... qualitativer Virusnachweis

n.n. ... nicht nachweisbar

+

.... positiv

-

... negativ

Wenn auch unter den Versuchsbedingungen der quantitative Nachweis von sekundär aerosolisiertem ND-Virus nicht möglich war, so beweist doch der positive qualitative Virusnachweis die Entstehung infektiöser Sekundäraerosole sowohl im KSF 70 als auch im AGI 30.

Tabelle 36: Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und im AGI 30
bei Versuchen mit Vaccinia-Virus (Sammelmedium:
Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		qual. Virusn.
Nr.	KSF 70	AGI 30	nachgeschalteter AGI 30
1	3,50		2,00 +
		3,50	n.n. +
2	3,25		n.n. -
		4,25	n.n. +
3	3,00		n.n. +
		3,25	n.n. -

qual. Virusn. ... qualitativer Virusnachweis

n.n. ... nicht nachweisbar

+ ... positiv

- ... negativ

Die Ergebnisse in Tabelle 36 belegen die Entstehung von infektiösen Sekundäraerosolen im KSF 70 und im AGI 30 durch qualitativen Nachweis von Vaccinia-Virus im Sammelmedium des nachgeschalteten AGI 30.

4.6. Ergebnisse der Untersuchungen zum Sammelstreß

Tabelle 37: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf ECBO-Virus, das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat (Sammelmedium: Grundmedium mit 10 % Virussuspension)

Versuch Nr.	Ausgangstitier ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)	Zusätze zum Sammelmedium	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
			0	5	10	15	20	25	30
1	6,75	-	6,75	6,75	6,50	6,50	6,75	6,25	6,50
2	6,50	-	6,50	6,75	6,75	6,75	6,50	6,75	6,25
3	6,75	0,05 % SRE	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,00	6,25
4	6,00	0,05 % SRE	6,25	6,25	5,75	5,75	6,00	6,25	6,00

Tabelle 38: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf ECBO-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,00	3,50	3,50	3,75	3,50	3,00	3,00
2	3,50	3,50	3,50	3,00	3,50	3,25	3,25

Tabelle 39: Wirkung des Sammelstreß im AGI 30 auf ECBO-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,25	3,25	3,50	3,50	3,50	3,75	3,75
2	3,50	3,50	3,75	3,50	3,50	3,50	3,50

Aus den Tabellen 37 - 39 geht hervor, daß bei im Sammelmedium des KSF 70 oder des AGI 30 suspendiertem ECBO-Virus durch halbstündigen Sammelstreß keine Inaktivierungsverluste bedingt wurden.

Eine virusschädigende Wirkung von 0,05 % SRE Antischaumemulsion ist aus den Ergebnissen nicht ableitbar.

Tabelle 40: Wirkung des Sammelstreiß im KSF 70 auf IBR/IPV-Virus, das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat (Sammelmedium: Grundmedium mit 10 % Virussuspension)

Versuch Nr.	Ausgangstit ^{er} $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Zusätze zum Sammelmedium	Virustiter ($\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
			0	5	10	15	20	25	30
1	4,50	-	4,50	5,00	5,00	4,75	4,75	4,50	4,25
2	4,75	-	5,00	4,75	4,75	4,75	5,25	4,75	5,00
3	4,75	0,05 % SRE	2,75	2,75	2,75	3,00	3,00	3,00	3,50
4	4,50	0,05 % SRE	2,25	2,00	1,75	1,50	2,50	2,00	2,75
5	6,00	0,05 % SRE	6,00	6,00	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
		0,25 % BSA							
6	5,75	0,07 % SRE	5,75	5,75	5,75	6,25	5,75	5,50	5,50
		0,25 % BSA							

BSA ... Bovines Serumalbumin

Tabelle 41: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf IBR/IPV-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,75	4,25	3,75	4,00	3,50	3,00	3,00
2	3,25	2,75	3,00	2,75	2,50	3,25	2,50

Tabelle 42: Wirkung des Sammelstreß im AGI 30 auf IBR/IPV-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,25	3,50	3,50	4,00	3,00	3,50	3,25
2	3,00	3,00	3,00	3,00	2,75	3,00	2,75

Die Ergebnisse der Tabellen 40 - 42 zeigen, daß im Sammelmedium des KSF 70 oder des AGI 30 suspendiertes IBR/IPV-Virus dem Sammelstreß gut zu widerstehen vermochte, gleichgültig, ob es zuvor eine luftgetragene Phase durchlaufen hatte oder nicht. In keinem Versuch trat während des 30-minütigen Sammelvorgangs ein signifikanter Titerverlust auf.

Aus Tabelle 40 ist ersichtlich, daß SRE Antischaumemulsion eine ausgesprochen viruzide Wirkung auf IBR/IPV-Virus hat.

Bei einer Konzentration von 0,05 % im Sammelmedium fiel der Virustiter um etwa $2 \log_{10}$ ab. Enthielt das Sammelmedium jedoch zusätzlich noch 0,25 % bovines Serumalbumin, so trat die viruzide Wirkung des Entschäumungsmittels selbst in der erhöhten Konzentration von 0,07 % nicht in Erscheinung (vgl. Kapitel 3.9.). In keinem Falle wurde das Sammelstreß-Verhalten von IBR/IPV-Virus beeinflusst.

Tabelle 43: Wirkung des Sammelstreiß im KSF 70 auf ND-Virus, das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat (Sammelmedium: Grundmedium mit 10 % Virussuspension)

Versuch Nr.	Ausgangstiter (log ₁₀ ^{KID} ₅₀ /ml)	Zusätze zum Sammelmedium	Virustiter (log ₁₀ ^{KID} ₅₀ /ml) nach min						
			0	5	10	15	20	25	30
1	5,00	-	5,00	5,25	4,75	5,25	5,25	5,25	4,50
2	4,50	-	4,75	4,50	4,50	4,75	4,00	4,50	4,25
3	4,50	0,05 % SRE	2,25	4,25	3,25	4,00	3,25	3,50	3,50
4	5,00	0,05 % SRE	3,25	4,00	3,50	4,00	3,50	3,50	3,75
5	5,00	0,05 % SRE	5,00	5,00	4,75	5,25	5,50	5,00	5,50
		0,25 % BSA							
6	4,75	0,07 % SRE	5,00	4,75	5,25	4,50	5,00	5,25	5,00
		0,25 % BSA							

BSA ... Bovines Serumalbumin

Tabelle 44: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf ND-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	2,75	3,00	2,00	2,25	2,50	2,50	2,75
2	2,50	2,00	2,50	2,50	2,50	2,75	2,25

Tabelle 45: Wirkung des Sammelstreß im AGI 30 auf ND-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,25 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	2,00	2,50	2,00	2,25	2,00	2,00	2,50
2	2,75	2,50	2,50	2,75	2,50	2,50	2,75

Aus den Versuchsergebnissen, die in den Tabellen 43 - 45 dargestellt sind, geht hervor, daß bei der Sammlung von luftgetragenen ND-Virus mit dem KSF 70 oder mit dem AGI 30 mit keinem sammelstreßbedingten Abfall des Virustiters zu rechnen ist, sofern das genannte Sammelmedium verwendet wird und die Sammelzeit nicht mehr als eine halbe Stunde beträgt.

SRE Antischaumemulsion wirkt auf ND-Virus viruzid. Eine Konzentration von 0,05 % führte zu einem Abfall des Virustiters um 1 - 2 $\log_{10}$ im Sammelmedium (Tabelle 43). Ent-

hielt dieses aber zusätzlich noch 0,25 % bovines Serumalbumin, so trat die virusschädigende Wirkung der Antischaumemulsion selbst bei einer Konzentration von 0,07 % nicht in Erscheinung (vgl. Kapitel 3.9.).

Das Sammelstreß-Verhalten von ND-Virus wurde durch das Entschäumungsmittel nicht beeinflußt.

Tabelle 46: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf Vaccinia-Virus,
das keine luftgetragene Phase durchlaufen hat
(Sammelmedium: Grundmedium mit 10 % Virussuspension)

Versuch Nr.	Ausgangstiters ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$)	Zusätze zum Sammelmedium	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
			0	5	10	15	20	25	30
1	5,50	-	5,50	5,50	5,75	5,75	5,25	5,75	5,25
2	5,25	0,05 % SRE	5,00	5,00	5,75	5,50	5,25	5,25	5,00

Tabelle 47: Wirkung des Sammelstreß im KSF 70 auf Vaccinia-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,50	3,50	3,75	3,25	3,50	3,50	3,50
2	3,25	3,25	3,50	3,50	3,25	3,00	3,00

Tabelle 48: Wirkung des Sammelstreß im AGI 30 auf Vaccinia-Virus, das aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden ist (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) nach min						
Nr.	0	5	10	15	20	25	30
1	3,50	3,50	3,75	3,50	3,75	3,75	3,75
2	4,25	3,75	4,00	3,75	3,75	4,25	3,75

Keines der in den Tabellen 46 - 48 dargestellten Versuchsergebnisse gibt einen Hinweis auf eine sammelstreßbedingte Inaktivierung von Vaccinia-Virus im Sammelmedium des KSF 70 oder des AGI 30 während des 30-minütigen Sammlerbetriebs.

SRE Antischaumemulsion erwies sich in einer Konzentration von 0,05 % als unschädlich für Vaccinia-Virus und beeinflusste auch sein Sammelstreß-Verhalten nicht.

4.7. Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit

Tabelle 49: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsub- stanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich) AGI 30
1	8,00	keine	n.n.	- n.n.
2	8,00	keine	n.n.	- n.n.
3	8,00	keine	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$ n.n.
4	8,00	keine	n.n.	- n.n.
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			-	- V = -
5	8,25	1 % Inosit	n.n.	- n.n.
6	8,25	1 % Inosit	n.n.	- n.n.
7	7,50	1 % Inosit	n.n.	- n.n.
8	7,50	1 % Inosit	n.n.	- n.n.
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			-	- V = -
9	7,25	0,4 % Ben- tonit	n.n.	- n.n.
10	7,25	0,4 % Ben- tonit	n.n.	- n.n.
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			-	- V = -

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

Tabelle 50: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 - 65 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,75	keine	3,25	3,79	3,50
2	7,75	keine	3,25	3,79	3,50
3	7,75	keine	3,50	4,04	3,50
4	7,75	keine	4,00	4,54	4,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,3	3,7	4,1
			$V = -0,4 \log_{10}$		
5	7,00	1 % Inosit	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	$\leq 1,75$
6	7,00	1 % Inosit	n.n.	-	n.n.
7	7,00	1 % Inosit	n.n.	-	n.n.
8	7,00	1 % Inosit	n.n.	-	n.n.
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			-	-	-
			$V = -$		

n.n. ... nicht nachweisbar

- ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

Tabelle 51: Sammelergebnisse mit ECBO-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 83 - 93 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,25	keine	2,50	3,04	3,75
2	7,25	keine	2,50	3,04	4,00
3	7,25	keine	2,50	3,04	3,50
4	7,25	keine	2,25	2,79	3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,8	4,3	3,6
$V = + 0,7 \log_{10}$					
5	6,75	1 % Inosit	3,00	3,54	4,00
6	6,75	1 % Inosit	3,25	3,79	4,50
7	7,50	1 % Inosit	4,00	4,54	4,25
8	7,50	1 % Inosit	3,25	3,79	4,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			3,8	3,2	2,8
$V = + 0,4 \log_{10}$					

Aus den Ergebnissen (Tabellen 49 - 51) geht folgendes hervor:

Bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit war der Nachweis von luftgetragendem ECBO-Virus weder mit dem KSF 70 noch mit dem AGI 30 erfolgreich. Daran änderte auch die Verwendung der Schutzsubstanzen Bentonit und Inosit nichts (Tabelle 49).

Lag die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 55 und 65 %, so konnten mit beiden Sammlern gleichermaßen gute Sammelergebnisse erzielt werden. Der Zusatz von 1 % Inosit zur Vernebelungssuspension wirkte sich allerdings negativ aus. Aerosolisiertes ECBO-Virus war in diesem Falle praktisch nicht mehr nachweisbar (Tabelle 50).

Bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit war luftgetragenes ECBO-Virus mit beiden Sammlern gut nachweisbar. Aus einem Vergleich der mittleren Bewertungszahlen ergibt sich, daß das Sammelergebnis durch Einsatz von Inosit als Schutzsubstanzen noch deutlich verbessert werden konnte, für den KSF 70 um den Faktor 10 ($\bar{B} = 3,8$ und $4,8 \log_{10}$) und für den AGI 30 ungefähr um den Faktor 6 ($\bar{B} = 2,8$ und $3,6 \log_{10}$) (Tabelle 51).

Der Sammlervergleich ergibt nur im Falle der Nichtverwendung von Schutzsubstanzen bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit (Tabelle 51) eine deutlich bessere (Faktor 5) Sammelerleistung des AGI 30.

Tabelle 52: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virus-titer ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virus-titer ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,25	20 % Pferdeserum	2,50	3,04	3,50
2	7,25	20 % Pferdeserum	2,25	2,79	3,00
3	7,25	20 % Pferdeserum	2,50	3,04	3,50
4	7,25	20 % Pferdeserum	3,00	3,54	3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,7	4,2	3,9
			$V = + 0,3 \log_{10}$		
5	7,25	1 % Inosit	2,50	3,04	2,75
6	7,25	1 % Inosit	2,25	2,79	3,25
7	6,50	1 % Inosit	2,00	2,54	3,00
8	6,50	1 % Inosit	2,50	3,04	3,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,6	4,0	3,9
			$V = + 0,1 \log_{10}$		

Tabelle 53: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 - 65 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	7,00	20 % Pferdeserum	2,25	2,79	2,25
2	7,00	20 % Pferdeserum	1,75	2,29	2,00
3	7,00	20 % Pferdeserum	2,25	2,79	2,25
4	7,00	20 % Pferdeserum	2,50	3,04	2,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,8	4,3	4,8
$V = -0,5 \log_{10}$					
5	7,50	1 % Inosit	3,00	3,54	3,50
6	7,50	1 % Inosit	2,75	3,29	3,75
7	7,50	1 % Inosit	3,50	4,04	3,25
8	7,50	1 % Inosit	3,25	3,79	3,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,3	3,8	3,9
$V = -0,1 \log_{10}$					

Tabelle 54: Sammelergebnisse mit IBR/IPV-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 83 - 93 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich) AGI 30
1	6,50	20 % Pferdeserum	2,50	3,04 2,75
2	6,50	20 % Pferdeserum	2,25	2,79 2,50
3	6,50	20 % Pferdeserum	2,50	3,04 3,25
4	6,50	20 % Pferdeserum	2,25	2,79 2,75
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,1	3,6 3,7
5	6,75	1 % Inosit	1,75	2,29 2,75
6	6,75	1 % Inosit	2,25	2,54 2,00
7	7,75	1 % Inosit	3,00	3,54 3,50
8	7,75	1 % Inosit	3,00	3,54 3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,8	4,3
			$V = -0,1 \log_{10}$	
			$V = +0,0 \log_{10}$	

Aus den Tabellen 52 - 54 geht hervor, daß die Schutzsubstanzen Pferdeserum und Inosit in allen 3 Bereichen relativer Luftfeuchtigkeit einen Nachweis von vernebeltem IBR/IPV-Virus ermöglichten.

Bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit war kein Unterschied zwischen der Effektivität der Schutzwirkungen von Inosit und Pferdeserum feststellbar (Tabelle 52).

Bei 55 - 65 % relativer Luftfeuchtigkeit war die Schutzwirkung von Inosit der von Pferdeserum überlegen, was im Falle des AGI 30 ungefähr einen Faktor 8 ($\bar{B} = 3,9$ und $4,8 \log_{10}$) zwischen den Sammelergebnissen ausmachte (Tabelle 53).

Umgekehrte Verhältnisse wurden bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 83 - 93 % vorgefunden. Hier erwies sich Pferdeserum als die effektivere Schutzsubstanz. Gegenüber der Verwendung von Inosit ließen sich mit dem KSF 70 um den Faktor 4 ($\bar{B} = 3,7$ und $4,3 \log_{10}$) bessere Sammelergebnisse erzielen (Tabelle 54).

Die relativ besten Sammelergebnisse ergaben sich mit beiden Sammlern bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit und Pferdeserum als Schutzsubstanz (Tabelle 54).

Der geringe Betrag der V-Werte verdeutlicht, daß die Abscheideleistungen von KSF 70 und AGI 30 unter den Versuchsbedingungen als gleich angesehen werden können.

Tabelle 55: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,25	20 % Pferdeserum	$\leq 1,00$	$\leq 1,54$	1,75
2	6,25	20 % Pferdeserum	$\leq 1,00$	$\leq 1,54$	1,50
3	6,25	20 % Pferdeserum	$\leq 1,50$	$\leq 2,04$	1,75
4	6,25	20 % Pferdeserum	$\leq 1,25$	$\leq 1,79$	2,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			$\geq 5,1$	$\geq 4,5$	$4,5$
$V \geq 0,0 \log_{10}$					
5	6,25	1 % Inosit	1,75	2,29	1,50
6	6,25	1 % Inosit	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	1,50
7	6,25	1 % Inosit	1,75	2,29	2,00
8	6,25	1 % Inosit	2,00	2,54	2,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			$\geq 4,7$	$\geq 4,2$	$4,4$
$V \geq -0,2 \log_{10}$					

Tabelle 56: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 - 65 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,50	20 % Pferdeserum	1,75	2,29	2,25
2	6,50	20 % Pferdeserum	2,25	2,79	2,50
3	6,50	20 % Pferdeserum	2,00	2,54	2,50
4	6,50	20 % Pferdeserum	1,75	2,29	2,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,6	4,0	4,1
V = - 0,1 $\log_{10}$					
5	6,50	1 % Inosit	2,50	3,04	2,00
6	6,50	1 % Inosit	2,25	2,79	2,75
7	6,50	1 % Inosit	1,75	2,29	2,25
8	6,50	1 % Inosit	2,00	2,54	2,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,4	3,8	4,1
V = - 0,3 $\log_{10}$					

Tabelle 57: Sammelergebnisse mit ND-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 83 - 93 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	5,50	20 % Pferdeserum	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	1,50
2	5,50	20 % Pferdeserum	n.n.	-	$\leq 1,25$
3	5,50	20 % Pferdeserum	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	$\leq 1,25$
4	5,50	20 % Pferdeserum	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	$\leq 1,25$
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			$> 4,8$	$> 4,2$	$\geq 4,2$
V = -					
5	5,50	1 % Inosit	n.n.	-	$\leq 1,00$
6	5,50	1 % Inosit	$\leq 0,75$	$\leq 1,29$	$\leq 1,00$
7	7,00	1 % Inosit	2,50	3,04	2,25
8	7,00	1 % Inosit	2,00	2,54	2,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			$> 4,8$	$> 4,2$	$\geq 4,6$
V = -					

n.n. ... nicht nachweisbar - ... nicht berechnet bzw. nicht berechenbar

In der in den Tabellen 55 - 57 dargestellten Versuchsreihe war luftgetragenes ND-Virus bei jeder relativen Luftfeuchtigkeit sowohl mit dem KSF 70 als auch mit dem AGI 30 nachweisbar. Dabei wurde kein wesentlicher Unterschied zwischen den Schutzwirkungen von Inosit und Pferdeserum gefunden.

Das relativ beste Sammelergebnis mit dem KSF 70 wurde bei mittlerer relativer Luftfeuchtigkeit und Verwendung von Inosit als Schutzsubstanz mit $\bar{B} = 4,4 \log_{10}$ erzielt (Tabelle 56). Das relativ schlechteste Sammelergebnis mit $\bar{B} \geq 5,1 \log_{10}$ weicht davon um einen Faktor ≥ 5 ab und wurde bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit und Verwendung von Pferdeserum als Schutzsubstanz gewonnen (Tabelle 55).

Anhand der V-Werte ist zwischen den Abscheideleistungen der beiden Sammler kein signifikanter Unterschied auszumachen.

Tabelle 58: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium
			KSF 70 KSF 70 (Vergleich) AGI 30
1	6,75	20 % Pferdeserum	2,25 2,79 2,75
2	6,75	20 % Pferdeserum	2,50 3,04 2,75
3	6,75	20 % Pferdeserum	2,75 3,29 3,00
4	6,75	20 % Pferdeserum	2,50 3,04 3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,3 3,7 3,8
$V = - 0,1 \log_{10}$			
5	7,00	1 % Inosit	2,75 3,29 3,75
6	7,00	1 % Inosit	2,50 3,04 3,25
7	7,00	1 % Inosit	2,75 3,29 3,25
8	7,00	1 % Inosit	3,00 3,54 3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,3 3,7 3,6
$V = + 0,1 \log_{10}$			

Tabelle 59: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 - 65 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium	
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich) AGI 30
1	6,75	20 % Pferdeserum	2,25	2,79 3,25
2	6,75	20 % Pferdeserum	2,75	3,29 3,75
3	6,75	20 % Pferdeserum	2,50	3,04 3,25
4	6,75	20 % Pferdeserum	2,50	3,04 3,50
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,3	3,7 3,3 $V = + 0,4 \log_{10}$
5	6,75	1 % Inosit	2,50	3,04 3,00
6	6,75	1 % Inosit	2,75	3,29 3,25
7	6,75	1 % Inosit	2,75	3,29 3,25
8	6,75	1 % Inosit	2,75	3,29 3,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,1	3,5 3,6 $V = - 0,1 \log_{10}$

Tabelle 60: Sammelergebnisse mit Vaccinia-Virus bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 83 - 93 % (Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Vernebelungssuspension	Schutzsubstanzen	Virustiter ($\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) Sammelmedium		
			KSF 70	KSF 70 (Vergleich)	AGI 30
1	6,25	20 % Pferdeserum	1,50	2,29	2,50
2	6,25	20 % Pferdeserum	2,50	3,04	2,50
3	6,25	20 % Pferdeserum	2,25	2,79	2,75
4	6,25	20 % Pferdeserum	2,50	3,04	3,25
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,1	3,5	3,5
$V = \pm 0,0 \log_{10}$					
5	6,25	1 % Inosit	2,25	2,79	2,25
6	6,25	1 % Inosit	1,75	2,29	2,25
7	6,25	1 % Inosit	2,25	2,79	2,75
8	6,25	1 % Inosit	2,75	3,29	3,00
$\bar{B}$ in $\log_{10}$			4,0	3,5	3,7
$V = - 0,2 \log_{10}$					

Aus den Tabellen 58 - 60 ist ersichtlich, daß alle Sammelergebnisse, die mit dem KSF 70 oder dem AGI 30 erzielt wurden, sehr nahe beieinanderliegen, unabhängig von der Höhe der relativen Luftfeuchtigkeit und der Art der Schutzsubstanz in der Vernebelungssuspension.

Die V-Werte weisen dabei auf eine unter den gegebenen Bedingungen praktisch gleiche Abscheideleistung von KSF 70 und AGI 30 hin.

4.8. Ergebnisse der Bestimmung der Nachweisgrenze von Virus-aerosolen für den KSF 70 und den AGI 30

Tabelle 61: Nachweisgrenze von ECBO-Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30 (Schutzsubstanz: keine, Sammelmedium: Grundmedium mit 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter PBE/0,5 ml) Vernebelungs- suspension	PBE/m ³ Kammerluft ¹⁾	Virustiter (PBE/0,5 ml) Sammelmedium	
			KSF 70	AGI 30
1	$2,6 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$	$3,7 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$
2	$2,6 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$	$3,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
3	$2,6 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$	$1,7 \times 10^1$	$1,7 \times 10^1$
4	$2,6 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$	$3,3 \times 10^1$	$4,3 \times 10^1$
5	$2,6 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^0$	$2,0 \times 10^0$
6	$2,6 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$2,7 \times 10^0$	$3,3 \times 10^0$
7	$2,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	++	+
8	$2,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	-	++
9	$2,6 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	-	-
10	$2,6 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	-	-

+, ++ ... kein Virustiter mehr bestimmbar; Plaquebildung nur in
1 (+) bzw. 2 (++) von 3 mit der unverdünnten Probe
beimpften Kulturschalen

- ... kein Virusnachweis möglich

1) Angegeben ist der theoretische Gehalt der Kammerluft an infektiösem Virus, der aus dem Rauminhalt der Aerosolkammer (vgl. Kapitel 3.8.2.), der pro Versuch vernebelten Menge Virussuspension (vgl. Kapitel 3.10.8.) und dem Virustiter in der Vernebelungssuspension unter der Annahme einer völlig gleichmäßigen Aerosolverteilung in der Kammerluft berechnet wurde. Eine mögliche Virusinaktivierung im luftgetragenen Zustand wurde nicht berücksichtigt.

Die Nachweisgrenze von luftgetragendem ECBO-Virus (N_{ECBO}) kann für beide Sammler aufgrund der Ergebnisse in Tabelle 61 wie folgt in PBE/m³ Kammerluft angegeben werden:

$$3,3 \times 10^2 < N_{\text{ECBO}} \leq 3,3 \times 10^3$$

Tabelle 62: Nachweisgrenze von IBR/IPV-Virusaerosolen für
den KSF 70 und den AGI 30 (Schutzsubstanz:
20 % Pferdeserum, Sammelmedium: Grundmedium mit
0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter PBE/0,5 ml) Vernebelungs- suspension	PBE/m ³ Kammerluft ¹⁾	Virustiter (PBE/0,5 ml) Sammelmedium	
			KSF 70	AGI 30
1	$5,3 \times 10^6$	$6,7 \times 10^6$	$1,9 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$
2	$5,3 \times 10^6$	$6,7 \times 10^6$	$3,0 \times 10^2$	$6,7 \times 10^2$
3	$5,3 \times 10^5$	$6,7 \times 10^5$	$2,0 \times 10^1$	$5,3 \times 10^1$
4	$5,3 \times 10^5$	$6,7 \times 10^5$	$4,3 \times 10^1$	$1,1 \times 10^2$
5	$5,3 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$	$3,7 \times 10^0$	$9,0 \times 10^0$
6	$5,3 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$	$1,5 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$
7	$5,3 \times 10^3$	$6,7 \times 10^3$	$1,3 \times 10^0$	++
8	$5,3 \times 10^3$	$6,7 \times 10^3$	$2,3 \times 10^0$	$4,7 \times 10^0$
9	$5,3 \times 10^2$	$6,7 \times 10^2$	-	-
10	$5,3 \times 10^2$	$6,7 \times 10^2$	-	-

++ ... kein Virustiter mehr bestimmbar; Plaquebildung nur in 2 von 3
mit der unverdünnten Probe beimpften Kulturschalen

- ... kein Virusnachweis möglich

1) Angegeben ist der theoretische Gehalt der Kammerluft an infektiösem
Virus, der aus dem Rauminhalt der Aerosolkammer (vgl. Kapitel
3.8.2.), der pro Versuch vernebelten Menge Virussuspension (vgl.
Kapitel 3.10.8.) und dem Virustiter in der Vernebelungssuspension
unter der Annahme einer völlig gleichmäßigen Aerosolverteilung in
der Kammerluft berechnet wurde. Eine mögliche Virusinaktivierung
im luftgetragenen Zustand wurde nicht berücksichtigt.

Die Nachweisgrenze von luftgetragendem IBR/IPV-Virus ($N_{\text{IBR/IPV}}$) kann für beide Sammler aufgrund der Ergebnisse in Tabelle 62 wie folgt in PBE/m³ Kammerluft angegeben werden:

$$6,7 \times 10^2 < N_{\text{IBR/IPV}} \leq 6,7 \times 10^3$$

Tabelle 63: Nachweisgrenze von ND-Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30 (Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum, Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter PBE/0,5 ml) Vernebelungs- suspension	PBE/m ³ Kammerluft ¹⁾	Virustiter (PBE/0,5ml) Sammelmedium	
			KSF 70	AGI 30
1	$1,3 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$	$1,7 \times 10^1$	$3,3 \times 10^1$
2	$1,3 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$	$1,7 \times 10^1$	$1,3 \times 10^1$
3	$1,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$2,3 \times 10^0$	$4,7 \times 10^0$
4	$1,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^0$	++
5	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	+	+
6	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	-	-
7	$1,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	-	-
8	$1,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	-	-

+, ++ ... kein Virustiter mehr bestimmbar; Plaquebildung nur in 1 (+) bzw. 2 (++) von 3 mit der unverdünnten Probe beimpften Kulturschalen

- ... kein Virusnachweis möglich

1) Angegeben ist der theoretische Gehalt der Kammerluft an infektiösem Virus, der aus dem Rauminhalt der Aerosolkammer (vgl. Kapitel 3.8.2.), der pro Versuch vernebelten Menge Virussuspension (vgl. Kapitel 3.10.8.) und dem Virustiter in der Vernebelungssuspension unter der Annahme einer völlig gleichmäßigen Aerosolverteilung in der Kammerluft berechnet wurde. Eine mögliche Virusinaktivierung im luftgetragenen Zustand wurde nicht berücksichtigt.

Die Nachweisgrenze von luftgetragendem ND-Virus (N_{ND}) kann für beide Sammler aufgrund der Ergebnisse in Tabelle 63 wie folgt in PBE/m³ Kammerluft angegeben werden:

$$1,7 \times 10^2 < N_{ND} \leq 1,7 \times 10^3$$

Tabelle 64: Nachweisgrenze von Vaccinia-Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30 (Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum, Sammelmedium: Grundmedium mit 4 % Kälberserum und 0,05 % SRE)

Versuch Nr.	Virustiter: PBE/0,5 ml) Vernebelungs- suspension	PBE/m ³ Kammerluft ¹⁾	Virustiter (PBE/0,5 ml) Sammelmedium	
			KSF 70	AGI 30
1	$7,0 \times 10^5$	$8,9 \times 10^5$	$1,1 \times 10^2$	$4,7 \times 10^2$
2	$7,0 \times 10^5$	$8,9 \times 10^5$	$3,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$
3	$7,0 \times 10^4$	$8,9 \times 10^4$	$3,4 \times 10^1$	$5,3 \times 10^1$
4	$7,0 \times 10^4$	$8,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$
5	$7,0 \times 10^3$	$8,9 \times 10^3$	$4,3 \times 10^0$	$2,7 \times 10^0$
6	$7,0 \times 10^3$	$8,9 \times 10^3$	$2,7 \times 10^0$	$2,0 \times 10^0$
7	$7,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^2$	-	+
8	$7,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^2$	+	-
9	$7,0 \times 10^1$	$8,9 \times 10^1$	-	-
10	$7,0 \times 10^1$	$8,9 \times 10^1$	-	-

+ ... kein Virustiter mehr bestimmbar; Plaquebildung nur in 1 von 3 mit der unverdünnten Probe beimpften Kulturschalen

- ... kein Virusnachweis möglich

1) Angegeben ist der theoretische Gehalt der Kammerluft an infektiösem Virus, der aus dem Rauminhalt der Aerosolkammer (vgl. Kapitel 3.8.2.), der pro Versuch vernebelten Menge Virussuspension (vgl. Kapitel 3.10.8.) und dem Virustiter in der Vernebelungssuspension unter der Annahme einer völlig gleichmäßigen Aerosolverteilung in der Kammerluft berechnet wurde. Eine mögliche Virusinaktivierung im luftgetragenen Zustand wurde nicht berücksichtigt.

Die Nachweisgrenze von luftgetragendem Vaccinia-Virus (N_{Vaccinia}) kann für beide Sammler aufgrund der Ergebnisse in Tabelle 64 wie folgt in PBE/m³ Kammerluft angegeben werden.

$$8,9 \times 10^1 < N_{\text{Vaccinia}} \leq 8,9 \times 10^2$$

4.9. Ergebnisse der Bestimmung der Überlebensrate von luftgetragenen IBR/IPV-Virus unter Berücksichtigung der physikalischen Aerosolverluste

Tabelle 65: Überlebensrate von luftgetragenen IBR/IPV-Virus, bestimmt in Sammelversuchen mit dem KSF 70 (Marker für physikalische Aerosolverluste: Sporen von *B. subtilis* var. niger, Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum, Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Vernebelungsauspension			Sammelmedium		Virus-Überlebensrate (%) 1)
	Virustiter in PBE/ml	Sporengleichgewicht in KBE/ml	Virustiter in PBE/ml	Sporengleichgewicht in KBE/ml		
1	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$3,8 \times 10^2$	$4,0 \times 10^3$		21,6
2	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$6,0 \times 10^2$	$5,7 \times 10^3$		23,9
3	$1,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^1$	$3,7 \times 10^3$		24,6
4	$1,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^7$	$8,6 \times 10^1$	$2,7 \times 10^3$		72,4
5	$1,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^7$	$7,4 \times 10^0$	$3,7 \times 10^3$		45,4
6	$1,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^7$	$3,0 \times 10^1$	$8,7 \times 10^3$		78,3

1) berechnet nach der in Kapitel 3.10.9. angegebenen Formel

Tabelle 66: Überlebensrate von luftgetragennem IBR/IPV-Virus, bestimmt in Sammelversuchen mit dem AGI 30 (Marker für physikalische Aerosolverluste: Sporen von *B. subtilis* var. niger, Schutzsubstanz: 20 % Pferdeserum, Sammelmedium: Grundmedium mit 0,2 % bovinem Serumalbumin und 0,07 % SRE)

Versuch Nr.	Vernebelungssuspension			Sammelmedium		Virus-Überlebensrate (%) 1)
	Virustiter in PBE/ml	Sporengleich in KBE/ml	Sporengleich in KBE/ml	Virustiter in PBE/ml	Sporengleich in KBE/ml	
1	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$		$5,6 \times 10^2$	$8,7 \times 10^3$	14,6
2	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$		$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$	42,2
3	$1,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^7$		$1,1 \times 10^2$	$6,3 \times 10^3$	39,7
4	$1,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^7$		$2,2 \times 10^2$	$2,6 \times 10^4$	19,2
5	$1,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^7$		$1,8 \times 10^1$	$9,0 \times 10^3$	45,4
6	$1,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^7$		$2,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^4$	22,7

1) berechnet nach der in Kapitel 3.10.9. angegebenen Formel

Aus den Ergebnissen der Sammelversuche mit dem KSF 70 (Tabelle 65) errechnet sich für IBR/IPV-Virus eine mittlere Überlebensrate von 44,4 %, aus den mit dem AGI 30 gewonnenen Ergebnissen (Tabelle 66) eine mittlere Überlebensrate von 30,6 %. Aufgrund der großen Streuung der einzelnen Werte, vor allem in den Versuchen mit dem KSF 70, kann dieser Unterschied jedoch nicht als signifikant angesehen werden.

5. Diskussion

5.1. Zu den Ergebnissen der Vorversuche

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß der KSF 70 für eine Abscheidung von Viren aus dem luftgetragenen Zustand geeignet ist.

Erwartungsgemäß führte bei allen Testviren der Sammelmodus "im Durchfluß" aufgrund der Verteilung der abgeschiedenen Viruspartikel in einem größeren Volumen zu niedrigeren Virustitern im Sammelmedium als der Sammelmodus "im Kreislauf". Die Differenz von $0,5 \log_{10}$, die theoretisch zwischen den entsprechenden mittleren Bewertungszahlen zu erwarten gewesen wäre, wurde mit keinem Testvirus genau erreicht. Für ECBO-, Vaccinia- und IBR/IPV-Virus liegen die Abweichungen von diesem Wert jedoch im Rahmen der Genauigkeit des Auswertungsverfahrens, die in Kapitel 3.11.1. mit $\pm 0,5 \log_{10}$ angegeben wurde. Für ND-Virus kann die Größe der Abweichung nicht bestimmt werden, da beim Sammeln "im Durchfluß" kein Virus mehr nachweisbar war.

Aus den Ergebnissen ergibt sich, daß der Einfluß des Sammelmodus auf die Viruskonzentration im Sammelmedium bei Sammelzeiten bis zu 5 min und Titrierung der Proben nach der Methode der Endpunktbestimmung mit 4 Parallelen (vgl. Kapitel 3.4.1.) nur gering ist. Aus diesem Grunde und wegen der praktischen Vorteile (vgl. Kapitel 3.1.1.3.) wurde für alle Sammelversuche, in denen es nicht darauf ankam, in minimaler Konzentration vorliegendes luftgetragenes Virus nachzuweisen, der Sammelmodus "im Durchfluß" gewählt.

5.2. Zum Einfluß verschiedener Schutzsubstanzen auf die Aerosolstabilität der Testviren

In Kapitel 2.4. wurde bereits ausführlich dargelegt, daß die Zusammensetzung des Mediums, aus dem heraus die Viren in den luftgetragenen Zustand übergehen, von entscheidender Bedeutung für den Erhalt ihrer Infektiosität ist.

Nach BENBOUGH (1969) vermag externes Protein luftgetragene Viren bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit vor Inaktivierung zu schützen, Inosit erwies sich als taugliche Schutzsubstanzen bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit (WEBB et al., 1963; BENBOUGH, 1969). STOTZKY et al. (1981) berichten, daß viele Viren leicht an Tonmineralien, besonders an Montmorillonit, adsorbieren. In ihren Versuchen mit Phagen, Reoviren und Herpesviren stellten sie fest, daß die an Tonmineralien adsorbierten Viren eine erhöhte Tenazität gegenüber hohen Temperaturen und Chemikalien besaßen, trotz ihrer Bindung aber noch Wirtszellen infizieren konnten.

In der vorliegenden Arbeit wurden Pferdeserum, Bentonit (besteht größtenteils aus Montmorillonit) und Inosit als Schutzsubstanzen verwendet. Während der Versuche der in diesem Abschnitt diskutierten Versuchsreihe lag die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 36 und 61 %.

Der Zusatz von Pferdeserum oder Bentonit zur Vernebelungssuspension erbrachte im Falle von ECBO-Virus keine höhere Sammelrate mit dem KSF 70 als bei Nicht-Verwendung von Schutzsubstanzen. Inosit führte dagegen zu einer deutlichen Verbesserung des Sammelergebnisses.

Ein Nachweis von IBR/IPV- und ND-Virus war ohne Schutzsubstanzen nicht möglich. Pferdeserum und Inosit bewirkten ein gleichermaßen gutes Sammelergebnis, mit Bentonit wurde die Nachweisgrenze gerade überschritten.

Für Vaccinia-Virus konnte das Sammelergebnis durch Einsatz von Pferdeserum, Bentonit und Inosit gegenüber der Nicht-Verwendung von Schutzsubstanzen um einen Faktor 10 - 20 gesteigert werden.

Es fällt auf, daß im Gegensatz zu den Ergebnissen der oben zitierten Autoren die proteinreiche Schutzsubstanz Pferdeserum und die Polyhydroxyverbindung Inosit die Testviren mit Ausnahme von ECBO-Virus im gleichen Bereich relativer Luftfeuchtigkeit gleich gut stabilisierten. Der Grund dafür könnte darin zu sehen sein, daß in den hier durchgeführten Versuchen praktisch keine Aerosoläquilibrierungszeit eingehalten wurde; Aerosolerzeugung und Sammelvorgang liefen parallel. Die genannten Autoren beobachteten ihre Virusaerosole dagegen über einen Zeitraum von mehreren Stunden.

5.3. Zum Einfluß verschieden zusammengesetzter Sammelmedien auf die Sammelausbeute

Eine wichtige Voraussetzung für das Erzielen guter Sammelausbeuten ist ein Sammelmedium, welches aufgrund seiner Zusammensetzung die abgeschiedenen Viren zu stabilisieren und ihre Infektiosität auch über einen längeren Zeitraum zu konservieren vermag. Daneben sollte das Sammelmedium auf die zum Virusnachweis benötigten Zellkulturen nicht schädigend wirken.

In Anlehnung an die Aerosolsammelversuche von HORZINEK (1972) und HÜBSCHLE (1980) wurde als Grundmedium die in der Zellkulturtechnik gebräuchliche phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) nach DULBECCO und VOGT (1954) gewählt, der zum Schutz vor bakterieller Kontamination noch Antibiotika zugesetzt wurden.

HÜBSCHLE (1980) fand, daß ECBO- und ND-Virus durch reine PBS-Lösung nur in geringem Maße vor Inaktivierung geschützt wurden. Erhebliche Schutzraten ergaben sich aber nach Zusatz von 0,1 bzw. 0,5 % bovinem Serumalbumin oder 2 % Kälberserum. Eine längere Konservierung abgeschiedener Viruspartikel bei Zimmertemperatur erreichte er u.a. durch Zusatz von foetalem Kälberserum, bovinem Serumalbumin, EDTA und Bentonit zum Sammelmedium. Diese Substanzen haben nach Ansicht des Autors eine abbindende oder neutralisierende Wirkung auf Proteasen, Hydrolasen und Lipasen, welche hauptsächlich für die Virusinaktivierung verantwortlich gemacht werden. Auch HORZINEK (1972) nennt als Wirkungsmechanismus für die virusstabilisierende Wirkung von 2 % Kälberserum im Sammelmedium die kompetitive Hemmung von Proteasen.

Die Auswahl der in den eigenen Versuchen getesteten Zusätze zum Sammelmedium erfolgte sowohl unter Berücksichtigung der oben zitierten Untersuchungen als auch der guten Ergebnisse, die RIEF-BRENNER (1986) mit diesen Zusätzen bei ihren Sammelversuchen mit dem Spezial-Impinger hatte.

Ein Vergleich der mit verschiedenen Zusätzen erzielten Sammelraten bestätigt die virusstabilisierende Wirkung von Proteinzusätzen zum Sammelmedium. 4 % Pferde- oder Kälberserum und 0,25 % bovines Serumalbumin im Grundmedium bewirkten im Falle von IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus Sammelausbeuten, die um mehr als den Faktor 100

über denen lagen, die sich mit Grundmedium ohne Zusätze ergaben. Infektiöses ND-Virus konnte jedoch aus Grundmedium mit Eiweißzusatz in Form von 0,2 % Pepton ebensowenig nachgewiesen werden, wie aus reinem Grundmedium. Ein Unterschied zwischen der protektiven Wirkung von Pferdeserum und bovinem Serumalbumin ist anhand der Ergebnisse mit ND-Virus nicht zu erkennen.

Bei IBR/IPV-Virus ergab sich dagegen mit bovinem Serumalbumin eine deutlich höhere Sammelausbeute (Faktor > 6) als mit Kälber- oder Pferdeserum. Die Sammelergebnisse mit IBR/IPV- und Vaccinia-Virus sprechen dafür, daß Pferde- und Kälberserum bei der Stabilisierung der abgeschiedenen Viren genau die gleiche Wirkintensität haben.

Mit ECBO-Virus erbrachten die Sammelmediumzusätze MEM und Glycerin im Gegensatz zu den Untersuchungen von RIEF-BRENNER (1986) keine höheren Sammelausbeuten als Grundmedium allein. Auch der von der Autorin beschriebene positive Effekt des Zusatzes von Glycerin auf die Rückgewinnungsrate von ND-Virus konnte nicht bestätigt werden. Als mögliche Ursachen dafür kommen abweichende Versuchsbedingungen und ein anders zusammengesetztes Grundmedium (m/90 Phosphatpuffer-Kochsalzlösung) in Frage.

Der für die jeweilige Virusart am besten geeignete Sammelmediumzusatz wurde in den weiteren Versuchsreihen beibehalten.

5.4. Zu den Ergebnissen des kombinierten Einsatzes von Schutzsubstanzen und Sammelmedien mit hoher Sammel- ausbeute

Die Versuche mit kombiniertem Einsatz von 20 % Pferdeserum in der Vernebelungssuspension und einem Sammelmedium mit großer virusstabilisierender Wirkung erbrachten für IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus mit beiden Sammlern geringgradig höhere Sammelausbeuten als die Versuche, in denen nur das entsprechende Sammelmedium eingesetzt wurde. Allerdings kann unter Berücksichtigung der Genauigkeit des Auswertungsverfahrens nur im Falle von IBR/IPV-Virus ein eindeutig positiver Effekt der zusätzlichen Verwendung von Pferdeserum als Schutzsubstanz gesehen werden, der sich in einer etwa 4-fachen Sammelausbeute äußert. Da in den Versuchen mit ECBO-Virus keine Schutzsubstanz zum Einsatz kam, ist ein Vergleich nicht möglich.

Daß insgesamt gesehen mit Pferdeserum als Schutzsubstanz keine große Steigerung der Sammelraten möglich war, ist sehr wahrscheinlich auf die niedrige relative Luftfeuchtigkeit von 20 - 28 % zurückzuführen, die während der Versuche herrschte. Serum und andere proteinhaltige Stoffe wirken nach den Untersuchungen vieler Autoren (BENBOUGH, 1969; TROUWBORST und DE JONG, 1973; TROUWBORST und KUYPER, 1974; u.a.) nur bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit protektiv auf luftgetragene Viren, indem sie die Oberflächeninaktivierung verhindern.

Die trotzdem bei IBR/IPV-Virus beobachtete geringe Schutzwirkung mag darauf beruhen, daß Aerosolerzeugung und Sammelvorgang parallel liefen, und damit die Aerosoltröpfchen der Kammerluft für eine völlige Äquilibrierung möglicherweise nicht lange genug ausgesetzt waren.

5.5. Zu den Ergebnissen der Versuche zur Erfassung von Durchreißeffekt und Sekundäraerosolbildung

Infektiöse Viren, welche in Aerosolpartikeln enthalten sind, die in den Keimsammlern durchgerissen oder sekundär entstanden sind, unterliegen ebenso wie die primär in den luftgetragenen Zustand übergegangenen Viren den Einflüssen von Umweltfaktoren. Vorrangig ist dabei die relative Luftfeuchtigkeit zu nennen.

Wenn auch bei den Versuchen zur Erfassung des Durchreißeffektes im KSF 70 und zur Erfassung der Sekundäraerosolbildung im KSF 70 und AGI 30 die relative Luftfeuchtigkeit im Laboratorium bei 36 - 61 % bzw. 20 - 28 % lag, so ist doch anzunehmen, daß die von den Sammlern angesaugte relativ trockene Luft bei ihrem innigen Kontakt mit dem Sammelmedium zu einem sehr hohen Prozentsatz mit Feuchtigkeit angereichert wurde, und somit in der Schlauchleitung zwischen Sammler und nachgeschaltetem AGI 30 eine hohe relative Luftfeuchtigkeit herrschte.

Betrachtet man die Ergebnisse der Untersuchungen zum Durchreißeffekt im KSF 70, dann fällt auf, daß mit ECBO-Virus die Virustiter im Sammelmedium des nachgeschalteten AGI 30 in derselben Größenordnung liegen wie im Sammelmedium des KSF 70. Trägt man noch den unterschiedlichen Mediummengen der beiden Sammler (KSF 70: 700 ml, AGI 30: 60 ml) Rechnung, so kann festgestellt werden, daß unter den Versuchsbedingungen im nachgeschalteten AGI 30 etwa 10 % der Virusmenge abgeschieden wurden, die mit dem KSF 70 gesammelt wurde. Dem KSF 70 kann also keinesfalls eine einer Filterwirkung vergleichbare Abscheideeffizienz zugesprochen werden; ein Großteil der angesaugten infektiösen Viruspartikel verläßt ihn wieder mit der Abluft.

Der Durchreißeffekt wurde auch in den Versuchen mit IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus beobachtet, jedoch nicht so ausgeprägt wie mit ECBO-Virus. Der Grund dafür mag einerseits darin liegen, daß diese 3 Virusarten im Gegensatz zu ECBO-Virus lipidhaltig sind, und damit durch die hohe relative Luftfeuchtigkeit in der Schlauchleitung zwischen KSF 70 und AGI 30 (vgl. oben) mehr oder weniger stark geschädigt werden, wie es DE JONG et al. (1973b) allgemeingültig formulierten. Daß dabei auch die Art der Schutzsubstanz von Bedeutung ist, zeigen die mit Vaccinia-Virus gewonnenen Ergebnisse. Andererseits muß die Überlebensrate der Viren auf dem Weg vom Aerosolgenerator zum KSF 70 in Betracht gezogen werden. Wenn aufgrund einer niedrigen Überlebensrate bereits im KSF 70 kaum nennenswerte Mengen an infektiösem Virus abgeschieden werden wie im Falle von ND-Virus, dann kann auch nicht mit einer hohen Sammelrate im nachgeschalteten AGI 30 gerechnet werden.

Zur Bildung von infektiösen Sekundäraerosolen kam es sowohl beim Betrieb des KSF 70 als auch des AGI 30. Jedoch gelang der quantitative Virusnachweis im nachgeschalteten AGI 30 nur in wenigen Versuchen mit IBR/IPV- und Vaccinia-Virus. Der qualitative Virusnachweis gelang häufiger, aber nicht immer. Bedenkt man zudem die relativ hohen Virustiter von meistens $3 - 4 \log_{10}$ in den Sammelmedien des KSF 70 und des AGI 30, so kommt man zu dem Schluß, daß die Bildung infektiöser Sekundäraerosole bei beiden Sammlern von untergeordneter Bedeutung ist.

5.6. Zu den Ergebnissen der Sammelstreßuntersuchungen

Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß 30minütiger Betrieb des KSF 70 bzw. des AGI 30 bei keinem der Testviren zu einem Titerabfall im Sammelmedium führte. Die geringgradigen Titterschwankungen, die gefunden wurden, gehen zweifellos zu Lasten der Genauigkeit des Auswertungsverfahrens.

Mit dem KSF 70 wurden Sammelstreßuntersuchungen sowohl mit Viren, die aus dem luftgetragenen Zustand gesammelt worden waren, als auch mit Viren, die keine Aerosolphase durchlaufen hatten, durchgeführt. Die Vermutung, daß aus Aerosolen abgeschiedene Viren infolge einer möglichen Vorschädigung im luftgetragenen Zustand gegenüber Sammelstreßeinflüssen besonders empfindlich sein könnten, ließ sich jedoch nicht bestätigen.

Daß SRE Antischaumemulsion toxisch auf IBR/IPV- und ND-Virus wirkt, wurde bereits in Kapitel 3.9. angeführt. In den Sammelstreßversuchen mit den beiden Virusarten verursachte sie dementsprechend einen initialen Titerabfall im Sammelmedium um $1 - 2 \log_{10}$. Von Bedeutung ist aber, daß der erniedrigte Virustiter während der 30 min langen Sammelstreßprüfung nicht noch weiter abfiel, sondern konstant blieb. Das Sammelstreßverhalten von IBR/IPV- und ND-Virus wurde also wie das von ECBO- und Vaccinia-Virus nicht beeinflußt. Die schädigende Wirkung von SRE Antischaumemulsion auf IBR/IPV- und ND-Virus konnte durch Zusatz von 0,25 % bovinem Serumalbumin zum Sammelmedium neutralisiert werden.

Die starke Belüftung des Sammelmediums während des Sammelvorgangs führt in beiden Sammlern - insbesondere aber im AGI 30 - zu einer extensiven Ausbildung von Luft-Flüssig-

keits-Grenzschichten, an denen suspendierte Viren nach dem Prinzip der Oberflächeninaktivierung inaktiviert werden können (TROUWBORST und DE JONG, 1973). Nach DONALDSON und FERRIS (1976), die Suspensionen verschiedener Viren einer längeren Belüftung aussetzten, sind davon besonders behüllte Viren betroffen. Dem Zusatz von bovinem Serumalbumin bzw. Kälberserum zum Sammelmedium ist es wahrscheinlich zuzuschreiben, daß es während der Sammelstreßversuche bei keiner lipidhaltigen Testvirusart zu einer derartigen Inaktivierung kam. Die Schutzfunktion von Serumbestandteilen dürfte der vergleichbar sein, die beispielsweise bei BENBOUGH (1969) und TROUWBORST et al. (1974) für andere eiweißhaltige Stoffe beschrieben ist.

In den Versuchen mit dem KSF 70, in denen mit PBS verdünnte Virussuspensionen durch den Sammler zirkulierten, ging der Schutz vor Oberflächeninaktivierung wahrscheinlich von dem Serumgehalt der aus Zellkulturüberständen gewonnenen Virussuspensionen aus. Abgesehen davon wird das Sammelmedium im KSF 70 durch die angesaugte Luft nicht annähernd so stark aufgewühlt wie im AGI 30, Luft-Flüssigkeits-Grenzschichten bilden sich folglich nur in geringerem Maße aus.

5.7. Zur Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit

Die Überlebensrate luftgetragener Viren und damit der Sammelerfolg mit einem Keimsammler hängt entscheidend von der Höhe der relativen Luftfeuchtigkeit (rel.F.) ab (vgl. Kapitel 2.3.1.). Mit Aerosolen aller 4 Testvirusarten wurden daher Sammelversuche bei niedriger (20 - 30 %), mittlerer (55 - 65 %) und hoher (83 - 93 %) rel.F. durchgeführt. Als Sammelmedien wurden diejenigen ausgewählt,

die in vorangegangenen Versuchsreihen (vgl. Kapitel 4.3.) eine hohe Sammelausbeute bewirkten. Daneben kamen die Schutzsubstanzen Pferdeserum, Inosit und Bentonit (nur ECBO-Virus) zum Einsatz.

Um sicherzustellen, daß es zu einer völligen Äquilibrierung der erzeugten Aerosoltröpfchen bei der jeweiligen rel.F. kam, wurde in Anlehnung an Autoren wie ELEZHARY und DERBYSHIRE (1977) und IJAZ et al. (1985) eine Aerosolstabilisierungszeit von 7 min zwischen Aerosolerzeugung und Sammelvorgang eingehalten.

ECBO-Virus erwies sich bei niedriger rel.F. als sehr instabil, die Nachweisgrenze wurde mit dem KSF 70 nur in einem Versuch knapp überschritten, mit dem AGI 30 gar nicht. Bei mittlerer und hoher rel.F. war der Nachweis dagegen mit beiden Sammlern sehr gut möglich; die Sammelergebnisse bei hoher rel.F. lagen geringgradig über denen bei mittlerer rel.F. Diese starke Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der rel.F. steht in Einklang mit den Befunden vieler Autoren, die mit anderen unbehüllten Viren arbeiteten (HEMMES et al. 1960; HARPER, 1961; MILLER und ARTENSTEIN, 1967; DE JONG und WINKLER, 1968; DONALDSON, 1972; DE JONG et al., 1973a und 1973b; DONALDSON und FERRIS, 1976; SATTAR et al., 1984).

Der Zusatz der Schutzsubstanzen Inosit oder Bentonit zur Vernebelungssuspension änderte nichts an dem negativen Sammelergebnis bei niedriger rel.F. Mit Inosit als Schutzsubstanz konnte auch BENBOUGH (1971) in Versuchen mit Aerosolen aus Poliomyelitisvirus, einem anderen unbehüllten Enterovirus, keine Steigerung der Sammelraten erzielen.

Während ohne Schutzsubstanzen vernebeltes ECBO-Virus bei mittlerer rel.F. stabil war, wurde nach Inositzusatz zur Vernebelungssuspension kein infektiöses Virus mehr in den

Sammlern abgeschieden. Der Unterschied zu den Ergebnissen in Kapitel 4.2.1., die eine ausgeprägte Schutzwirkung von Inosit auf luftgetragenes ECBO-Virus bei 36 - 61 % rel.F. belegen, dürfte in der unterschiedlichen Aerosoläquilibriumierungszeit in den beiden Versuchsreihen begründet sein. Die schädigende Wirkung von Inosit auf Virusaerosole ist bislang in der Literatur noch nicht beschrieben. Bei hoher rel.F. führte mit Inosit vernebeltes ECBO-Virus allerdings zu um den Faktor 6 - 10 besseren Sammelergebnissen als ohne Schutzsubstanzen vernebeltes.

IBR/IPV-Virus müßte als behülltes Virus nach der von DE JONG et al. (1973b) aufgestellten allgemeinen Regel (vgl. Kapitel 2.3.1.) im luftgetragenen Zustand bei niedriger rel.F. eine hohe und bei hoher rel.F. eine nur geringe Stabilität besitzen. Dafür sprechen auch die Untersuchungen, die DONALDSON und FERRIS (1976) sowie ELEZHARY und DERBYSHIRE (1977) mit dieser Virusart durchführten.

Die eigenen Untersuchungen ergaben dagegen die relativ besten Sammelergebnisse bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit. Der Unterschied zu den Ergebnissen der zitierten Autoren dürfte darin begründet sein, daß sowohl ein gut virusstabilisierendes Sammelmedium als auch wirksame Schutzsubstanzen eingesetzt wurden. Diese Kombination protektiver Maßnahmen erlaubte einen Nachweis von luftgetragendem IBR/IPV-Virus bei jeder relativen Luftfeuchtigkeit. Aus den mittleren Bewertungszahlen ist ersichtlich, daß zwischen der besten und der schlechtesten mit dem KSF 70 erzielten Sammelrate nur ein Faktor von ungefähr 5 liegt. Daß die Schutzwirkung von Pferdeserum als gegen die Oberflächeninaktivierung gerichteten Agens nur bei hoher rel.F. größer war als die von Inosit, ist konform mit dem bei TROUWBORST et al. (1974) beschriebenen Mechanismus der Schutzwirkung (vgl. Kapitel 2.4.).

Auch im Falle von ND-Virus wäre nach DE JONG et al. (1973b) und den Versuchsergebnissen von SONGER (1967) bei niedriger rel.F. eine deutlich höhere Sammelrate als bei mittlerer oder hoher rel.F. zu erwarten gewesen. Tatsächlich wurde das relativ beste Sammelergebnis bei mittlerer rel.F. erzielt. Ähnlich wie bei IBR/IPV-Virus liegt zwischen bestem und schlechtestem Sammelergebnis aber nur ein Faktor von ≥ 5 . Die Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension erlaubten in Verbindung mit dem gut virusstabilisierenden Sammelmedium einen etwa gleich guten Nachweis des Virus bei jeder getesteten rel.F..

Vaccinia-Virus im luftgetragenen Zustand besitzt nach HARPER (1961) bei niedriger rel.F. die größte Stabilität. Dagegen fanden WEBB et al. (1963) bei Aerosolversuchen mit dem sehr ähnlich aufgebauten Taubenpockenvirus keine Abhängigkeit der Inaktivierungsrate von der rel.F..

Auch nach den eigenen Versuchsergebnissen besteht keine solche Abhängigkeit, was wahrscheinlich auf den kombinierten Einsatz von Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension und einem günstig zusammengesetzten Sammelmedium zurückzuführen ist.

Insgesamt kann festgestellt werden, daß im Falle von IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus mit den in dieser Versuchsreihe verwendeten Schutzsubstanzen und Sammelmedien der in der Literatur belegte Einfluß der rel.F. auf das Sammelergebnis weitgehend ausgeschaltet wurde. Eine brauchbare Methode, um luftgetragenes ECBO-Virus auch bei niedriger rel.F. nachweisen zu können, wurde nicht gefunden.

5.8. Zu den Ergebnissen der Bestimmung der Nachweisgrenze von Virusaerosolen für den KSF 70 und den AGI 30

Sowohl der KSF 70 als auch der AGI 30 sind für das Sammeln natürlich entstandener Virusaerosole kaum geeignet, weil beide Sammler mit zu geringen Luftdurchsätzen arbeiten (KSF 70: bis 20 l/min, AGI 30: 12 l/min).

Es ist von untergeordneter Bedeutung, wieviel Prozent der in einem Aerosol vorhandenen Viruspartikel in einem Sammler abgeschieden werden. Lediglich die absolute Zahl der Partikel, die für den Nachweis gesammelt werden, ist wichtig. Diese wiederum stellt eine Funktion der Sammlereffektivität und des Volumens der gesammelten Luft dar (DECKER et al., 1969). Auch HORZINEK (1972) weist darauf hin, daß zum Nachweis eines biologischen Agens - Bakterium oder Virus - in der Luft in der Regel sehr große Luftvolumina geprüft werden müssen.

WINKLER (1968) konnte luftgetragenes Tollwutvirus in Frio Cave/Texas mittels eines Large-Volume Air Samplers sammeln, der mit Luftdurchsätzen bis zu 10 000 l/min betrieben wurde. Der Virusnachweis aus Sammelproben, die mit dem All-Glass Impinger 4 (Luftdurchsatz: 10 l/min) gewonnen wurden, gelang ihm nicht.

ARTENSTEIN et al. (1967) untersuchten die Luft in Räumen, in denen sich akut respiratorisch erkrankte Menschen befanden. Die Autoren fanden 1 Einheit Adenovirus Typ 4 in einem Luftvolumen von 5,6 - 56 m³.

RILEY und O'GRADY (1961, zitiert nach ARTENSTEIN et al., 1967) errechnen aufgrund epidemiologischer Daten eine Masernvirus-Konzentration von 1 infektiösen Dosis in 85 m³ Schulraumluft.

Die in den eigenen Untersuchungen gefundenen Viruskonzentrationen in der Luft, bis zu denen herab mit dem KSF 70 oder dem AGI 30 in 5minütiger Sammelzeit ein positives Sammelergebnis erzielt werden konnte, liegen dagegen für ECBO-, IBR/IPV- und ND-Virus bei einigen Hundert bis einigen Tausend, für Vaccinia-Virus bei einigen Zehn bis einigen Hundert Plaquebildenden Einheiten pro m³. Berücksichtigt man die Überlebensrate der Viren im Testaerosol, die für IBR/IPV-Virus mit 30 - 45 % bestimmt wurde (vgl. Kapitel 4.9.), so erniedrigen sich zwar die oben aufgeführten Virus-Grenzkonzentrationen in der Luft um einen entsprechenden Faktor (2 - 3 im Falle von IBR/IPV-Virus), liegen damit aber noch immer deutlich über den sehr geringen Konzentrationen natürlicher Virusaerosole.

Aus einer vergleichenden Betrachtung der Versuchsergebnisse kann geschlossen werden, daß die Überlebensraten von ECBO- und ND-Virus unter den jeweiligen Versuchsbedingungen in etwa der gleichen Größenordnung lagen wie die von IBR/IPV-Virus. Es ist anzunehmen, daß die im Vergleich zu den anderen Viren auffallend niedrige Nachweisgrenze für Vaccinia-Virus durch eine wesentlich höhere Überlebensrate im luftgetragenen Zustand bedingt ist.

Ein Nachweis minimaler Virusmengen in der Luft mit Hilfe des KSF 70 oder des AGI 30 dürfte umso erfolgreicher sein, je länger die gewählte Sammelzeit ist. Innerhalb von mehreren Stunden können auch mit diesen Sammlern einige m³ Luft gesammelt werden.

Ein solcher zeitlicher Aufwand wird aber häufig nicht vertretbar sein, wenn ein schnelles Resultat benötigt wird. Auch wären bei so langen Sammelzeiten Sammelstreßauswirkungen zu befürchten, die bei Sammelzeiten bis zu einer halben Stunde noch nicht zu Tage treten (vgl. Kapitel 4.6.). Außerdem ist damit zu rechnen, daß die Elektromotoren des

KSF 70 einem solchen Dauerbetrieb nicht lange standhalten würden. Schon während der halbstündigen Sammelstreßuntersuchungen ging die Drehzahl des Motors, der Trommel und Lüfterrad in Rotation versetzt, auf $\frac{2}{3}$ des Ausgangswertes zurück (vgl. Kapitel 3.1.1.3.).

Eine Aufkonzentrierung des Sammelmediums nach dem Sammelvorgang kann in Kombination mit einer langen Sammelzeit den Virusnachweis erleichtern bzw. erst ermöglichen. Die einige Zeit erfordernde Aufkonzentrierung kann aber nur dort praktiziert werden, wo ein schneller Virusnachweis nicht gefordert ist.

Aus dem Gesagten werden die Vorteile der Sammler deutlich, die bei sehr hohen Luftdurchsätzen eine nur relativ geringe Menge an Sammelmedium benötigen, wie z.B. der Large-Volume Air Sampler.

5.9. Beurteilung des KSF 70 im Vergleich mit dem AGI 30

Zu den meisten Aerosolsammelversuchen mit dem KSF 70 wurden Parallelversuche mit dem AGI 30 durchgeführt, denn nur durch den Vergleich mit einem Standardkeimsammler kann die Sammeleffizienz des KSF 70 beurteilt werden (BRACHMAN et al., 1964).

Der Vergleich erfolgte mittels der V-Werte (vgl. Kapitel 3.11.2.). Von 36 berechneten V-Werten zeigen 4 mit $\pm 0,0 \log_{10}$ eine identische Sammeleffizienz von KSF 70 und AGI 30 an, 10 mit positivem Vorzeichen eine bessere Sammeleffizienz des AGI 30 und 22 mit negativem Vorzeichen eine bessere Sammeleffizienz des KSF 70. Nur 3 der Werte haben jedoch einen Betrag, der geringfügig über der mit $\pm 0,5 \log_{10}$ angesetzten Genauigkeit des Auswertungsverfahrens liegt.

Aufsummierung aller V-Werte und Bildung des arithmetischen Mittels ergibt einen mittleren V-Wert von $-0,05 \log_{10}$ bei einer Standardabweichung von $0,33 \log_{10}$. Dies bedeutet, daß die Effizienz des KSF 70 bei der Abscheidung luftgetragener Viren durchschnittlich etwa 1,1mal so hoch ist wie die des AGI 30. Die Standardabweichung macht einen Faktor von etwa 2,1 im Sammelergebnis aus.

Aus den Ergebnissen geht also hervor, daß KSF 70 und AGI 30 praktisch die gleiche Sammelleistung erbringen. Die Aussage von HÜBSCHLE (1980), daß bei Verwendung von Zentrifugalsammlern eine beachtliche Steigerung der Sammelausbeute gegenüber Impinger-Sammlern erreicht wird, kann nach den eigenen Ergebnissen nicht bestätigt werden.

Beim Vergleich von KSF 70 und AGI 30 sind jedoch noch andere Gesichtspunkte zu berücksichtigen.

Der KSF 70 ist ein kompliziert aufgebautes Gerät (vgl. Kapitel 3.1.1.), dessen Aufsatz vor und nach jedem Sammeleinsatz in einer langwierigen Prozedur zusammengesetzt bzw. wieder auseinandergenommen werden muß. Als Reservoir und Auffangbecken für das Sammelmedium werden zusätzliche Gefäße benötigt, die über Schlauchleitungen mit dem Sammler verbunden werden müssen. Elektrische Bauteile und feinmechanische Anzeigergeräte machen den Sammler zudem störanfällig. Die Beschaffungskosten sind hoch.

Der AGI 30 ist dagegen ein einfach aufgebauter, leicht und billig zu beschaffender Keimsammler, der mit wenigen Handgriffen in Betriebsbereitschaft versetzt werden kann (vgl. Kapitel 3.1.2.).

Aufgrund seiner bedeutend einfacheren Handhabung bei gleicher Abscheideleistung ist daher für den praktischen Einsatz der AGI 30 dem KSF 70 vorzuziehen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zentrifugalsammler nach Schiff (KSF 70) auf seine Eignung für die Abscheidung luftgetragener Viren untersucht. Die Sammelversuche wurden an Aerosolkammern ausgeführt, in die künstlich erzeugte Aerosole von ECBO-, IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus eingeleitet wurden. Parallelversuche mit einem Standardkeimsammler, dem All-Glass Impinger 30 (AGI 30) erlaubten eine vergleichende Beurteilung der Sammeleffizienz des KSF 70.

Vorversuche ergaben, daß eine Abscheidung luftgetragener Viren mit dem KSF 70 grundsätzlich möglich ist.

Durch Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension konnte die Sammelausbeute gesteigert werden. Insbesondere Inosit und Pferdeserum erwiesen sich als effektive Schutzsubstanzen, letzteres jedoch nicht für ECBO-Virus.

Von den getesteten Sammelmediumzusätzen führten bovines Serumalbumin, Kälber- und Pferdeserum zu einer erheblichen Erhöhung der Sammelausbeute an infektiösem IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus. Die in den Sammelversuchen mit ECBO-Virus verwendeten Zusätze Minimum Essential Medium und Glycerin verbesserten das Sammelergebnis nicht.

In den Versuchen zur Erfassung des Durchreißeffekts entgingen mindestens 10 % der vom KSF 70 angesaugten infektiösen Viruspartikel dem Abscheidemechanismus und waren in einem nachgeschalteten AGI 30 nachweisbar.

Dagegen ist die Bildung infektiöser Sekundäraerosole sowohl im KSF 70 als auch im AGI 30 von untergeordneter Bedeutung.

Eine durch Sammelstreß bedingte Inaktivierung der Testviren wurde bei Sammelzeiten bis zu einer halben Stunde weder mit dem KSF 70 noch mit dem AGI 30 beobachtet.

Eine ausgeprägte Abhängigkeit des Sammelergebnisses von der relativen Luftfeuchtigkeit wurde nur in den Versuchen mit ECBO-Virus gefunden. Das Virus war nach Vernebelung bei niedriger relativer Luftfeuchtigkeit von 20 - 30 % nicht in den Sammelproben nachweisbar. Bei mittlerer relativer Luftfeuchtigkeit von 55 - 65 % hatte Inosit eine schädigende Wirkung auf luftgetragenes ECBO-Virus.

Der Nachweis von infektiösem IBR/IPV-, ND- und Vaccinia-Virus gelang bei jeder relativen Luftfeuchtigkeit, was wahrscheinlich auf den kombinierten Einsatz von Schutzsubstanzen in der Vernebelungssuspension und virusstabilisierenden Zusätzen zum Sammelmedium zurückzuführen ist. Während im Falle von IBR/IPV- und ND-Virus die Sammelergebnisse abhängig von der Art der Schutzsubstanz und der relativen Luftfeuchtigkeit geringe Schwankungen aufweisen, wurden mit Vaccinia-Virus unter allen Bedingungen gleiche Sammelergebnisse erzielt.

Die Viruskonzentrationen in der Kammerluft, die als Nachweisgrenze für die beiden Sammler bestimmt wurden, liegen mindestens 1000fach über denen, die unter natürlichen Bedingungen vorgefunden werden, selbst wenn man eine nur geringe Überlebensrate im luftgetragenen Zustand in Betracht zieht. Als Hauptursache dafür sind die geringen Luftdurchsätze von KSF 70 und AGI 30 anzusehen.

Aus dem Vergleich der mit dem KSF 70 und dem AGI 30 in Parallelversuchen gewonnenen Sammelergebnisse geht hervor, daß beide Sammler unter den gegebenen Bedingungen praktisch die gleiche Sammeleffizienz für luftgetragene Viren besitzen. Aus Kostengründen und wegen der bedeutend einfacheren Handhabung ist jedoch dem AGI 30 für den praktischen Einsatz der Vorzug zu geben.

SUMMARY

INVESTIGATIONS INTO THE SAMPLING OF AIRBORNE VIRUSES WITH THE SCHIFF CENTRIFUGAL SAMPLER (KSF 70)

In the work presented here the Schiff Centrifugal Sampler (KSF 70) was tested for its suitability for the sampling of airborne viruses. Sampling experiments were performed with artificially generated aerosols of ECBO, IBR/IPV, ND and vaccinia viruses, which were passed into aerosol chambers. Parallel trials with a standard sampler, the all-glass impinger 30 (AGI 30) permitted an estimation of the sampling efficiency of the KSF 70.

Preliminary tests demonstrated that sampling of airborne viruses is feasible with the KSF 70.

Sampling results could be improved by adding protective agents to the spray suspension. Especially inositol and horse serum proved to be effective; horse serum however did not protect airborne ECBO virus.

Of the sampling medium additives tested bovine serum albumin, calf and horse serum led to a considerable increase in the sampling rates of infectious IBR/IPV, ND and vaccinia viruses. The additives minimum essential medium and glycerol used in sampling experiments with ECBO virus did not improve sampling results.

In testing the KSF 70 for aerosol slippage, at least 10 % of the intake of infectious virus particles were found to escape from the sampling mechanism and could be recovered from an AGI 30 put in line behind the KSF 70.

The formation of infectious secondary aerosols is of minor importance in the KSF 70 as well as in the AGI 30.

Sampling stress up to half an hour did not result in any inactivation of test viruses, neither in the KSF 70 nor in the AGI 30.

A pronounced correlation between sampling results and relative humidity was found in the experiments with ECBO virus only. At a low relative humidity from 20 to 30 % no recovery from the chamber air was possible. At a midrange relative humidity from 55 to 65 % inositol had a deleterious effect on airborne ECBO virus.

The recovery of infectious IBR/IPV, ND and vaccinia viruses was successful for the whole range of relative humidities tested. This seems to be due to the combined use of protective agents in the spray suspension and stabilizing additives to the sampling medium. Subject to the kind of protective agent and to relative humidity, sampling results with IBR/IPV and ND viruses show slight variations, which is however not the case with vaccinia virus.

Concentrations of airborne viruses, that were determined as recovery limits for the two samplers, are at least a 1000 times higher than those found naturally, even if a low survival rate in the airborne state is taken into consideration. The low air sampling rates of the KSF 70 and the AGI 30 have to be regarded as the main cause for this result.

The comparison of sampling results gained with the KSF 70 and the AGI 30 in parallel trials shows, that under the prevailing conditions the sampling efficiency of the two samplers is practically the same. However, for reasons of handling and expenditure the AGI 30 should be preferred for practical use.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ADAMS, D. J., Aerosol Stability of Infectious
SPENDLOVE, J. C., and Potentially Infectious
SPENDLOVE, R. S., Reovirus Particles.
BARNETT, B. B. Appl. Environ. Microbiol. 44,
 903 - 908 (1982)
- AFSHAR, A. A Review of Non-Bite Transmission
 of Rabies Virus Infection.
 Br. vet. J. 135, 142 - 148 (1979)
- AKERS, T. G. Some Aspects of the Airborne In-
 activation of Viruses.
 In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C.
 (eds.): Airborne Transmission and
 Airborne Infection.
 Oosthoek Publishing Company, Ut-
 recht, The Netherlands, 1973
- AKERS, T. G., Survival of a Picornavirus and
HATCH, M. T. Its Infectious Ribonucleic Acid
 after Aerosolization.
 Appl. Microbiol. 16, 1811 - 1813
 (1968)
- ANDERSEN, A. A. New Sampler for the Collection,
 Sizing and Enumeration of Viable
 Airborne Particles.
 J. Bacteriol. 76, 471 - 484
 (1958)
- ANDERSEN, A. A., A Monitor for Airborne Bacteria.
ANDERSEN, M. R. Appl. Microbiol. 10, 181 (1962)

- ANDERSON, J. D.,
COX, C. S. Microbial Survival - Airborne
Microbes, 17th Symposium of the
Society for General Microbiology.
GREGORY, P. H., MONTEITH, J. L.,
London, Cambridge University
Press, 1967
- APPLEYARD, G. The Photosensitivity of Semliki
Forest and Other Viruses.
J. gen. Virol. 1, 143 (1967)
- ARTENSTEIN, M. S.,
MILLER, W. S. Air Sampling for Respiratory
Disease Agents in Army Recruits.
Bacteriol. Rev. 30, 571 - 572
(1966)
- ARTENSTEIN, M. S.,
MILLER, W. S.,
RUST, J. H.,
LAMSON, T. H. Large-Volume Air Sampling of
Human Respiratory Disease Patho-
gens.
Am. J. Epidem. 85, 479 - 485
(1967)
- AXELSSON, G.,
JEANSSON, S.,
RYLANDER, R.,
UNANDER, M. Pregnancy Abnormalities among
Personnel at a Virological
Laboratory.
Am. J. Ind. Med. 1, 129 - 137
(1980)
- BAYLOR, E. R.,
PETERS, V.,
BAYLOR, M. B. Water-to-Air Transfer of Virus.
Science 197, 763 - 764 (1977a)
- BAYLOR, E. R.,
BAYLOR, M. B.,
BLANCHARD, D. C.,
SYZDEK, L. D.,
APPEL, C. Virus Transfer from Surf to Wind
Science 198, 575 - 580 (1977b)

- BENBOUGH, J. E. The Effect of Relative Humidity
on the Survival of Airborne
Semliki Forest Virus.
J. gen. Virol. 4, 473 - 477
(1969)
- BENBOUGH, J. E. Some Factors Affecting the
Survival of Airborne Viruses.
J. gen. Virol. 10, 209 - 220
(1971)
- BENBOUGH, J. E.,
HOOD, A. M. Viricidal Activity of Open Air.
J. Hyg. Camb. 69, 619 - 626
(1971)
- BLANCHARD, D. C.,
SYZDEK, L. D. Importance of Bubble Scavenging
in the Water to Air Transfer of
Organic Material and Bacteria.
J. Recherch. Atmos. 8, 529 - 540
(1974)
- BONIN, O. Quantitativ - Virologische Metho-
dik.
Thieme Verlag, Stuttgart 1973
- BRACHMAN, P. S.,
EHRlich, R.,
EICHENWALD, H. F.,
GABELLI, V. J.,
KETHLEY, T. W. et al. Standard Sampler for Assay of
Airborne Microorganisms.
Science 144, 1295 (1964)
- BRAYMEN, D. T. Survival of Micro-Organisms in
Aerosols Produced in Cleaning
and Disinfecting.
Public Health Reports 84,
547 - 552 (1969)

- CADLE, R. D. The Measurement of Airborne Particles.
John Wiley & Sons, New York - London - Sydney - Toronto 1975
- CARLSON, S., Zur Filterung der Keime aus der Luft.
HUSMANN, K. H., Zbl. biol. Aerosolforschung 9,
HÜTER, J. 334 (1961)
- DECKER, H. M., Advances in Large-Volume Air Sampling.
BUCHANAN, L. M., Contamination Control 8,
FRISQUE, D. E., 13 - 17 (1969)
FILLER, M. E.,
DAHLGREN, C. M.
- DE JONG, J. C. On the Mechanism of the Decay of Poliomyelitis Virus and Enzephalemio-
myocarditis Virus in Aerosols.
In: SILVER, I. H. (ed.):
Proceedings of the Third International Symposium on Aerobiology.
Academic Press, Inc., New York 1970
- DE JONG, J. C., Inactivation of Semliki Forest Virus in Aerosols.
HARMSSEN, M., Appl. Env. Microbiol. 32, 315 - 319
PLANTINGA, A. D., (1976)
TROUWBORST, T.
- DE JONG, J. C., The Infectivity of the Nucleic Acid of Aerosol-Inactivated Poliovirus.
HARMSSEN, M., J. gen. Virol. 18, 83 - 86 (1973a)
TROUWBORST, T.

- DE JONG, J.,
TROUWBORST, G. T.,
WINKLER, K. C. The Mechanism of Virus Decay in
Aerosols.
In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C.
(eds.): Airborne Transmission and
Airborne Infection.
Oosthoek Publishing Company,
Utrecht, The Netherlands, 1973 (b)
- DE JONG, J. C.,
WINKLER, K. C. Survival of Measles Virus in Air.
Nature 201, 1054 - 1055 (1964)
- DE JONG, J. C.,
WINKLER, K. C. The Inactivation of Poliovirus in
Aerosols.
J. Hyg. Camb. 66, 557 - 565 (1968)
- DIMMICK, R. L.,
AKERS, A. B. An Introduction to Experimental
Aerobiology.
Wiley - Interscience, New York -
London - Sydney - Toronto 1969
- DONALDSON, A. I. The Influence of Relative Humidity
on the Airborne Stability of Dif-
ferent Strains of Foot-and-Mouth
Disease Virus Suspended in Saliva.
J. gen. Virol. 15, 25 - 33 (1972)
- DONALDSON, A. I. The Influence of Relative Humidity
on the Stability of Foot- and-Mouth
Disease Virus in Aerosols from Milk
and Faecal Slurry.
Res. vet. Sci. 15, 96 - 101 (1973)
- DONALDSON, A. I. Factors Influencing the Dispersal,
Survival and Disposition of Airborne
Pathogens to Farm Animals.
Vet. Bull. 48: 83 - 93 (1978)

- DONALDSON, A. I.,
FERRIS, N. P. The Survival of Foot-and-Mouth
Disease Virus in Open Air Conditions.
J. Hyg. Camb. 74, 409 - 416 (1975)
- DONALDSON, A. I.,
FERRIS, N. P. The Survival of Some Air-Borne Viruses
in Relation to Relative Humidity.
Vet. Microbiol. 1, 413 - 420 (1976)
- DONALDSON, A. I.,
FERRIS, N. P.,
GLOSTER, J. Air Sampling of Pigs Infected with
Foot-and-Mouth Disease Virus:
Comparison of Litton and Cyclone
Samplers.
Res. vet. Sci. 33, 384 - 385 (1982a)
- DONALDSON, A. I.,
GLOSTER, J.,
HARVEY, L. D. J.,
DEANS, D. H. Use of Prediction Models to Forecast
and Analyse Airborne Spread during
the Foot-and-Mouth Disease Outbreaks
in Brittany, Jersey and the Isle of
Wight in 1981.
Vet. Rec. 110, 53 - 57 (1982b)
- DONALDSON, A. I.,
WARDLEY, R. C.,
MARTIN, S.,
FERRIS, N. P. Experimental Aujeszky's Disease in
Pigs: Excretion, Survival and Trans-
mission of the Virus.
Vet. Rec. 113, 490 - 494 (1983)
- DRUETT, H. A. The Open Air Factor.
In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C.
(eds.): Airborne Transmission and
Airborne Infection.
Oosthoek Publishing Company, Utrecht,
The Netherlands, 1973
- DULBECCO, R.,
VOGT, M. Plaque Formation and Isolation of
Pure Lines with Poliomyelitis Viruses.
J. Exp. Med. 99, 167 - 182 (1954)

- EHRlich, R.,
MILLER, S. Effect of Relative Humidity and
 Temperature on Airborne Venezuelan
 Equine Encephalitis Virus.
 Appl. Microbiol. 22, 194 - 199
 (1971)
- EHRlich, R.,
MILLER, S. Effect of NO₂ on Airborne Vene-
 zuelan Equine Encephalomyelitis
 Virus.
 Appl. Microbiol. 23, 481 - 484
 (1972)
- ELEZHARY, M. A. S. Y.,
DERBYSHIRE, J. B. Effect of Temperature, Relative
 Humidity and Medium on the Aerosol
 Stability of Infectious Bovine
 Rhinotracheitis Virus.
 Can. J. Comp. Med. 43, 158 - 167
 (1977)
- ERRINGTON, F. P.,
POWELL, E. O. A Cyclone Separator for Aerosol
 Sampling in the Field.
 J. Hyg. Camb. 67, 387 - 396
 (1969)
- FATTAL, B.,
TELTSCH, B. Viruses in Wastewater Aerosols.
 Environ. Int. 7, 35 - 38 (1982)
- GERONE, P. J.,
COUCH, R. B.,
KEEFER, G. V.,
DOUGLAS, R. G.,
DERREBACKER, E. B.,
KNIGHT, V. Assessment of Experimental and
 Natural Viral Aerosols.
 Bacteriol. Rev. 30: 576 - 584
 (1966)

- GLOSTER, J. Forecasting the Airborne Spread
of Foot-and-Mouth Disease and
Newcastle Disease.
In: BROOKSBY, J. B. (ed.):
The Aerial Transmission of Disease.
The Royal Society of London, 1983 (a)
- GLOSTER, J. Factors Influencing the Airborne
Spread of Newcastle Disease.
Br. vet. J. 139, 445 - 451
(1983b)
- GLOSTER, J.,
DONALDSON, A. I.,
HOUGH, M. N. Analysis of a Series of Outbreaks
of Aujeszky's Disease in Yorkshire
in 1981 - 82: The Possibility of
Airborne Disease Spread.
Vet. Rec. 114, 234 - 239 (1984)
- GLOSTER, J.,
SELLERS, R. F.,
DONALDSON, A. I. Long Distance Transport of Foot-
and-Mouth Disease Virus over the
Sea.
Vet. Rec. 110, 47 - 52 (1982)
- GREGORY, P. H. The Microbiology of the Atmosphere,
2nd ed.. Leonard Hill, London,
Interscience, New York 1973
- GUERIN, J. F.,
MITCHELL, C. A. A Method for Determining the Con-
centration of Airborne Viruses and
Sizing Droplet Nuclei Containing
the Agent.
Can. J. Comp. Med. 28, 283 - 287
(1964)

- GUSTAFSON, T. L., An Outbreak of Airborne Nosocomial
LAVELY, G. B., Varicella.
BRAUNER, E. R. jr., Pediatrics 70, 550 - 556 (1982)
HUTCHESON, R. H. jr.,
WRIGHT, P. F.,
SCHAFFNER, W.
- HARPER, G. J. Airborne Micro-Organisms: Survival
 Tests with Four Viruses.
 J. Hyg. Camb. 59: 479 - 486 (1961)
- HARPER, G. J. The Influence of Environment on
 the Survival of Airborne Virus
 Particles in the Laboratory.
 Arch. gesamte Virusforsch. 13,
 64 - 71 (1963)
- HARPER, G. J. The Influence of Urban and Rural
 Air on the Survival of Microorgan-
 isms Exposed on Microthreads.
 In: HERS, J. F. Ph., WINKLER,
 K. C. (eds.): Airborne Transmission
 and Airborne Infection.
 Oosthoek Publishing Company, Utrecht,
 The Netherlands, 1973
- HARRIS, A. A., Selected Aspects of Nosocomial
LEVIN, S., Infections in the 1980s.
TRENHOLME, G. M. Am. J. Med. 77, 3 - 10 (1984)
- HATCH, T. F. Distribution and Deposition of
 Inhaled Particles in Respiratory
 Tract.
 Bacteriol. Rev. 25, 237 - 240
 (1961)

- HATCH, M. T.,
WARREN, J. C. Enhanced Recovery of Airborne T3
Coliphage and Pasteurella pestis
Bacteriophage by Means of a Pre-
sampling Humidification Technique.
Appl. Microbiol. 17, 685 - 689
(1969)
- HAUPT, H. Krupp-Studie Duisburg.
In: VON NIEDING, G., JANDER, K.
(Hrsg.): Smogepisoden.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart -
New York 1986
- HEMMES, J. H.,
WINKLER, K. C.,
KOOL, S. M. Virus Survival as a Seasonal Fac-
tor in Influenza and Poliomyelitis.
Nature (London) 188, 430 - 431
(1960)
- HORZINEK, M. Untersuchungen zum Schnellnachweis
eines Arbo-A-Virus (Sindbis) in
der Luft.
Bundesforschungsanstalt für Virus-
krankheiten der Tiere, Tübingen 1972
- HÜBSCHLE, O. J. B. Optimierung zur Probennahme von hoch-
infektiösen Virus aerosolen.
Bundesforschungsanstalt für Virus-
krankheiten der Tiere, Tübingen 1980
- HUGH-JONES, M. E. The Epidemiology of Airborne Animal
Diseases.
In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C.
(eds.): Airborne Transmission and
Airborne Infection.
Oosthoek Publishing Company, Utrecht,
The Netherlands, 1973

- HUGH-JONES, M. E.,
WRIGHT, P. B. Studies on the 1967/68 Foot-and-Mouth Disease Epidemic. The Relation of Weather and the Spread of the Disease.
J. Hyg. Camb. 68, 253 - 271 (1970)
- HURTIENNE, H. Vergleiche zwischen mehreren Verfahren zur Bestimmung des Keimgehaltes der Stallluft unter verschiedenen Bedingungen.
Vet. med. Diss., Berlin 1967
- IJAZ, M. K.,
SATTAR, S. A.,
JOHNSON-LUSSENBURG,
C. M.,
SPRINGTHORPE, V. S. Comparison of the Airborne Survival of Calf Rotavirus and Poliovirus Type 1 (Sabin) Aerosolized as a Mixture.
Appl. Environ. Microbiol. 49, 289 - 293 (1985)
- JARNYCH, V. S. Aerosole in der Veterinärmedizin.
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin 1976
- JENSEN, M. M. Inactivation of Airborne Viruses by Ultraviolet Irradiation.
Appl. Microbiol. 12, 418 - 420 (1964)
- KANZ, E.,
KANZ, C. Die Praxis der Krankenhaushygiene - Gestern und Heute, 8. Folge.
Hyg. u. Med. 11, 25 - 31 (1986)
- KAUL, A. Reaktorunfall von Tschernobyl: Quantifizierung und Bewertung des Strahlenrisikos.
Bundesgesundheitsblatt 29, 244 - 248 (1986)

- KRAIDMAN, G. The Microbiology of Airborne Contamination and Air Sampling.
Drug and Cosmetic Industry 116,
40 - 43 (1975)
- KVITTINGEN, J., The Roto-Rod Sampler.
MAUSETH, O. Acta path. et microbiol. scandinavica 69, 77 - 82 (1967)
- LANGELAND, G. Infection Risk among Sewage Workers.
In: BLOCK, J. C., HAVELAAR, A. H.,
L'HERMITE, P. (eds.):
Epidemiological Studies of Risks
Associated with the Agricultural
Use of Sewage Sludge: Knowledge
and Needs.
Elsevier Applied Science Publishers,
London and New York 1985
- LEVY, D., Relationship between Acute Respiratory
GENT, M., Illness and Air Pollution
NEWHOUSE, M. T. Levels in an Industrial City.
Am. Rev. Resp. Dis. 116, 167 - 173
(1977)
- LEYK, W., Direktnachweis von Coxiella burnetti
SCHEFFLER, R., aus Luftproben auf mit Kraton 1107
SCHLIESSER, T. beschichteten Objektträgern.
Zentbl. Bakt. Parasit. Kde. I Orig.
234A, 105 - 109 (1976)
- LUTZ, B. Adsorption von luftgetragenen Viruspartikeln
an organische und anorganische Trägersubstanzen
der Stallluft.
Vet. med. Diss., Gießen 1983

- MACHER, J. M.,
FIRST, M. W. Reuter Centrifugal Air Sampler:
Measurement of Effective Airflow
Rate and Collection Efficiency.
Appl. Env. Microbiol. 45, 1960 -
1962 (1983)
- MACK, H.,
WEKERLE, J.,
STRAUCH, D. Vorläufige Mitteilung Über die Iso-
lierung von Aujeszky-Virus aus Fest-
und Flüssigmist von Schweinen sowie
aus Stallluft.
Tierärztliche Umschau 41, 32 - 38
(1986)
- MARKS, J. S.,
SERDULA, M. K.,
HALSEY, N. A. Saturday Night Fever: A Common-Source
Outbreak of Rubella among Adults in
Hawaii.
Am. J. Epidemiol. 114, 574 - 583
(1981)
- MAY, K. R. The Collison Nebulizer: Description,
Performance and Application.
J. Aerosol. Sci. 4, 235 - 243
(1973)
- MAY, K. R.,
DRUETT, H. A. The Pre-Impinger: A Selective
Aerosol Sampler.
Brit. J. Industr. Med. 10,
142 - 151 (1953)
- MAY, K. R.,
HARPER, G. J. The Efficiency of Various Liquid
Impinger Samplers in Bacterial
Aerosols.
Brit. J. Industr. Med. 14,
287 - 297 (1957)

- MILLER, W. S.,
ARTENSTEIN, M. S. Aerosol Stability of Three Acute
Respiratory Disease Viruses.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125,
222 - 227 (1967)
- MOE, K.,
HARPER, G. J. The Effect of Relative Humidity
and Temperature on the Survival
of Bovine Rotavirus in Aerosol.
Arch. Virol. 76, 211 - 216 (1983)
- NASH, T. Detection of Presumed OAF Using a
Nucleus Counter.
In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C.
(eds.): Airborne Transmission and
Airborne Infection.
Oosthoek Publishing Company, Utrecht,
The Netherlands, 1973
- RABEY, F.,
JANSSEN, R. J.,
KELLEY, L. M. Stability of St. Louis Encephalitis
Virus in the Airborne State.
Appl. Microbiol. 18, 880 - 882
(1969)
- RIEF-BRENNER, R. Untersuchungen zur virusabscheiden-
den Wirkung eines neuartigen Luft-
keimsammlers.
Vet. med. Diss., Gießen 1986
- ROLLE, M.,
MAYR, A. Medizinische Mikrobiologie, Infek-
tions- und Seuchenlehre.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
1984

- ROTTER, M.,
KOLLER, W.,
FLAMM, H.,
RESCH, W.,
SCHEDLING, J.
- Sampling of Airborne Bacteria by Gelatine Filters in an Automatic Sampler.
In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C. (eds.). Airborne Transmission and Airborne Infection. Oosthoek Publishing Company, Utrecht, The Netherlands, 1973
- SATTAR, S. A.,
IJAZ, M. K.,
JOHNSON-LUSSENBURG, C. M.,
SPRINGTHORPE, V. S.
- Effect of Relative Humidity on the Airborne Survival of Rotavirus SA-11.
Appl. Environ. Microbiol. 47, 879 - 881 (1984)
- SHIPE, E. L.,
TYLER, M. E.,
CHAPMAN, D. N.
- Bacterial Aerosol Samplers.
II. Development and Evaluation of the Shipe Sampler.
Appl. Microbiol. 7, 349 - 354 (1959)
- SMITH, C. V.
- Airborne Infection and Livestock Disease Control: a Meteorological Appreciation.
In: BOOKSBY, J. B. (ed.): The Aerial Transmission of Disease. The Royal Society of London, 1983
- SONGER, J. R.
- Influence of Relative Humidity on the Survival of Some Airborne Viruses.
Appl. Microbiol. 15, 35 - 42 (1967)

- SPENDLOVE, J. C.,
FANNIN, K. F. Methods of Characterization of
Virus Aerosols.
In: Gerba, C. P., Goyal, S. M. (eds.):
Methods in Environmental Virology.
Marcel Dekker, Inc., New York -
Basel 1982
- SPINDLER,
THEURER,
KIENZLE,
BRAUN Das Schlachttier- und Fleischbe-
schaugesetz. Verlag W. Kohlhammer,
Stuttgart - Berlin - Köln - Mainz
1980
- STOTZKY, G.,
SCHIFFENBAUER, M.,
LIPSON, S. M.,
YU, B. H. Surface Interactions between Viru-
ses and Clay Minerals and Microbes:
Mechanisms and Implications.
In: GODDARD, M., BUTLER, M. (eds.):
Viruses and Wastewater Treatment.
Pergamon Press, New York 1981
- TELTSCH, B.,
KATZENELSON, E. Airborne Enteric Bacteria and Vi-
ruses from Spray Irrigation with
Wastewater.
Appl. Environ. Microbiol. 35,
290 - 296 (1978)
- THOMAS, G. An Adhesive Surface Sampling Tech-
nique for Airborne Viruses.
J. Hyg. Camb. 68, 273 - 282 (1970)
- THORNLEY, W. R. Method for Studying Particle Size
and Infective Potential of Infec-
tious Bovine Rhinotracheitis
Virus Aerosols.
Appl. Microbiol. 21, 369 - 370
(1971)

TROUWBORST, T.,
DE JONG, J. C.

Surface Inactivation, an Important Mechanism of Aerosol Inactivation for Viruses Inactivated at High Relative Humidity.

In: HERS, J. F. Ph., WINKLER, K. C. (eds.): Airborne Transmission and Airborne Infection. Oosthoek Publishing Company, Utrecht, The Netherlands, 1973

TROUWBORST, T.,
KUYPER, S.

Inactivation of Bacteriophage T3 in Aerosols: Effect of Prehumidification on Survival after Spraying from Solutions of Salt, Peptone and Saliva.

Appl. Microbiol. 27, 834 - 837 (1974)

TROUWBORST, T.,
KUYPER, S.
DE JONG, J. C.,
PLANTINGA, A. D.

Inactivation of Some Bacterial and Animal Viruses by Exposure to Liquid-Air Interfaces.

J. gen. Virol. 24, 155 - 165 (1974)

TYLER, M. E.,
SHIPE, E. L.

Bacterial Aerosol Samplers.

I. Development and Evaluation of the All-Glass Impinger.

Appl. Microbiol. 7, 337 - 349 (1959)

WALLHÄUSSER, K. H.

Praxis der Sterilisation, Desinfektion Konservierung - Keimidentifizierung - Betriebshygiene, 3. Auflage.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1984

- WALLIS, C.,
MELNICK, J. L.,
RAO, V. C.,
SOX, T. H.
- Method for Detecting Viruses in Aerosols.
Appl. Env. Microbiol. 50,
1181 - 1186 (1985)
- WARREN, J. C.,
AKERS, T. G.,
DUBOVI, E. J.
- Effect of Prehumidification on Sampling of Selected Airborne Viruses.
Appl. Microbiol. 18, 893 - 896
(1969)
- WEBB, S. J.,
BATHER, R.,
HODGES, R. W.
- The Effect of Relative Humidity and Inositol on Airborne Viruses.
Can. J. Microbiol. 9, 87 - 92
(1963)
- WEKERLE, J.
- Untersuchungen zur Absorption, Emission und Inaktivierung luftgetragener Viruspartikeln durch Belebtschlamm-Absorber.
Agrarwiss. Diss., Hohenheim 1982
- WELLS, W. F.
- Apparatus for Study of the Bacterial Behavior of Air.
Am. J. Public Health 23, 58 - 59
(1933)
- WINKLER, W. G.
- Airborne Rabies Virus Isolation.
Bull. Wildlife Dis. Assoc. 4,
37 - 40 (1968)

WOLF, H. W.,
SKALIY, P.,
HALL, L. B.,
HARRIS, M. M.,
DECKER H. M.,
BUCHANAN, L. M.,
DAHLGREN, C. M.

Sampling Microbiological Aerosols.
Public Health Service Publication
no. 686.
Public Health Monograph no. 60,
Washington 1959

WORLD HEALTH
ORGANIZATION

Human Viruses in Water, Waste-
water and Soil.
Technical Report Series 639,
Geneva 1979

Herrn Prof. Dr. D. Strauch danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung und für die hervorragenden Arbeitsbedingungen im Institut für Tiermedizin und Tierhygiene.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr bin ich für die Übernahme der Arbeit zur Vorlage bei der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München sehr zu Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Wekerle für die fachliche Beratung und Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Untersuchungen sowie für die fruchtbaren Diskussionen.

Ebenso möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts danken für die gute Zusammenarbeit, stete Hilfsbereitschaft und das herzliche und kollegiale Arbeitsklima am Institut.

Lebenslauf

Andreas Hänel, geboren am 16.08.1959 in Steinheidel/Krs.
Schwarzenberg

1966 - 1969	Besuch der Grundschule in Göppingen-Bezgenriet
1969 - 1978	Besuch des Mörike-Gymnasiums in Göppingen Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife
1978 - 1979	Wehrdienst bei der Bundeswehr
1979 - 1984	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Staatsexamen
1985	Approbation als Tierarzt
1985 - 1987	Doktorand und wissenschaftlicher Mit- arbeiter am Institut für Tiermedizin und Tierhygiene der Universität Hohenheim



dissertationsdruck · vervielfältigungen
f. u. t. müllerbader
Forststraße 18 · 7024 Filderstadt 4 (Plattenhardt)
Telefon (07 11) 77 15 67